



DIVISIÓN DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERIA

---

# SIMULACIÓN ESTOCÁSTICA DEL PROCESO DE PLASTICIDAD SINÁPTICA

TESIS DE MAESTRÍA

---

Presentada por:  
**Crhistian Miguel Gutiérrez Galindo**

Bajo la dirección de  
Dra. Virginia González Vélez  
Profesora Titular  
Depto. de Ciencias Básicas

***Posgrado en Ingeniería de Procesos***

Azcapotzalco, México D.F., 18 de Enero del 2016.



# Índice general

<b>1. Introducción</b>	<b>1</b>
<b>2. Planteamiento del Problema</b>	<b>3</b>
<b>3. Marco Teórico</b>	<b>5</b>
<b>4. Objetivos</b>	<b>14</b>
<b>5. Planteamiento de las Simulaciones</b>	<b>16</b>
5.1. Simulaciones Temporales . . . . .	16
5.1.1. Algoritmo de Gillespie . . . . .	17
5.2. Simulaciones Geométricas . . . . .	21
5.2.1. Algoritmo de Monte Carlo . . . . .	24
<b>6. Resultados</b>	<b>27</b>
6.1. Resultados Simulaciones Temporales . . . . .	27
6.1.1. Dinámicas de Glutamato . . . . .	27
6.2. Resultados Simulaciones Geométricas . . . . .	32

6.2.1. Condiciones Geométricas . . . . .	32
<b>7. Conclusiones</b>	<b>48</b>
A. Sistema de ecuaciones esquema de Heckmann	51
B. Sistema de ecuaciones esquema de Jonas	53
C. Sistema de ecuaciones esquema de Jhar	55
D. Perfiles de Glutamato	57
E. Publicaciones derivadas de esta Tesis	62

# Índice de figuras

3.1. Esquema cinético de receptores AMPA propuesto por Jonas [1]	12
3.2. Esquema cinético de receptores AMPA propuesto por Heckmann [2] . . . . .	12
3.3. Esquema cinético de receptores NMDA propuesto por Jahr [3]	13
5.1. Diagrama de bloques del algoritmo de Gillespie . . . . .	20
5.2. Modelo geométrico propuesto . . . . .	22
5.3. Diagrama de bloques del algoritmo de Monte Carlo . . . . .	26
6.1. Simulación de transición entre estados para modelos de receptores AMPA. (a) $e_0$ (morado), $e_1$ (rojo), $e_2$ (azul), $e_3$ (azul cielo), $e_4$ (verde), $e_5$ (amarillo). (b) $e_0$ (morado), $e_1$ (cafe), $e_2$ (azul), $e_3$ (azul cielo), $e_4$ (verde), $e_5$ (amarillo), $e_5$ (rojo) . . .	37
6.2. Simulación de transición entre estados para modelos de receptores NMDA. $e_0$ (morado), $e_1$ (verde), $e_2$ (azul), $e_3$ (azul cielo), $e_4$ (rojo). . . . .	38
6.3. Simulación de receptores AMPA. 5000 moléculas (verde), 500 moléculas (azul) y 50 moléculas (rojo). . . . .	38
6.4. Simulación de receptores AMPA con pulsos de corta duración. 5000 moléculas (amarillo), 500 moléculas (azul cielo) y 50 moléculas (morado). . . . .	39

6.5.	Simulación de receptores AMPA aumentando la concentración de glutamato, pulsos de mediana concentración (amarillo), pulsos de baja concentración (azul cielo).	39
6.6.	Simulación de receptores AMPA aumentando la concentración de glutamato, pulsos de alta concentración (amarillo), pulsos de mediana concentración (azul cielo).	40
6.7.	Simulación de los receptores AMPA bajo una disminución de la intensidad de concentración, pulsos de alta concentración (azul) y pulsos de mediana concentración (rojo)	40
6.8.	Simulación de diferentes frecuencias de pulsos de glutamato en receptores AMPA. frecuencias altas 33Hz (amarillo), 66Hz (azul cielo) y 133Hz (morado); frecuencias bajas 8Hz (azul), 16Hz (verde) y 33Hz (rojo).	41
6.9.	Simulación de diferentes frecuencias para receptores NMDA. (a) 5000 moléculas (verde), 500 moléculas (azul) y 50 moléculas (rojo).(b)133Hz (amarillo), 66Hz (azul cielo) y 33Hz (morado).	42
6.10.	Simulación del modelo de Heckmann distribuyendo a los receptores de forma aleatoria en un disco de radio $0.1\mu\text{m}$ y variando la distancia entre las membranas pre y postsinapticas	43
6.11.	Simulación del modelo de Heckmann distribuyendo a los receptores de forma aleatoria en un disco de radio $0.025\mu\text{m}$ y variando la distancia entre las membranas pre y postsinapticas	44
6.12.	Simulación del modelo de Heckmann distribuyendo a los receptores de forma aleatoria y aglomerada ( $r=0.1\mu\text{m}$ y $r=0.025\mu\text{m}$ respectivamente) y manteniendo como variable constante la distancia entre las membranas pre y postsinapticas ( $h=10\text{nm}$ )	45
6.13.	Simulación del modelo de Heckmann distribuyendo a los receptores de forma aleatoria y aglomerada ( $r=0.1\mu\text{m}$ y $r=0.025\mu\text{m}$ respectivamente) y manteniendo como variable constante la distancia entre las membranas pre y postsinapticas ( $h=20\text{nm}$ )	46

6.14. Comparación de algoritmos estocásticos . . . . .	47
D.1. Pulsos de corta duración y diferente intensidad (usados en la sección 6.1.1). . . . .	58
D.2. Tren de estímulos de pulsos crecientes de glutamato (usados en la sección 6.1.1). . . . .	59
D.3. Tren de estímulos de pulsos decrecientes de glutamato (usados en la sección 6.1.1). . . . .	60
D.4. Tren de estímulos constantes y de baja frecuencia. D.4bTren de estímulos constantes y de frecuencia mediana (usados en la sección 6.1.1). . . . .	61

# Índice de cuadros

5.1. Parámetros implementados en las simulaciones tipo Gillespie .	21
5.2. Parámetros implementados en las simulaciones tipo Monte Carlo	25
6.1. Tabla de comparación de resultados obtenidos con las simulaciones mostradas en las figuras 6.10, 6.11, 6.12 y 6.13 . . . . .	35



# Dedicatoria

*La presente tesis se la dedico a mi familia que gracias a su apoyo pude concluir mi Maestría. A mis padres y hermanas por su apoyo, ellos siempre estaban dispuestos a ayudar en los momentos más duros sin pedir nada a cambio. Gracias por ayudarme a cumplir mis objetivos como persona y como estudiante. Son muchas las personas que han formado parte de mi vida profesional a las que me encantaría agradecerles su amistad, consejos, apoyo, ánimo y compañía en los momentos más difíciles de mi vida. Algunas están aquí conmigo y otras en mis recuerdos y en mi corazón, sin importar en donde estén quiero darles las gracias por formar parte de mí, por todo lo que me han brindado.*

# Agradecimientos

Agradezco a mi familia por estar siempre conmigo en las buenas y en las malas, ya que siempre han sido mi fuente de inspiración en los momentos más difíciles alentándome a seguir adelante y que a pesar de los obstáculos que se presentan día a día, nunca hay que rendirse ante las adversidades de la vida.

También me gustaría agradecer a mi asesora, Dra. Virginia González Velez, gracias a ella por compartirme sus conocimientos y experiencia para instruirme en el camino del buen estudiante y así poder terminar mis estudios de Maestría con éxito. Este logro no fuera posible sin su ayuda, su comprensión y su apoyo.

Agradezco a la Dra. Amparo Gil Gómez por su guía y apoyo, al compartir sus conocimientos y experiencias de investigación, brindados durante mi estancia en la Universidad de Cantabria.

A la UAM-Azcapotzalco por brindarme la oportunidad de escalar un peldaño más en el campo del conocimiento de esta etapa de mi formación académica y por el apoyo financiero que me brindó para poder asistir a los congresos que me permitieron incrementar mis conocimientos en esta tesis.

Agradezco infinitamente al Consejo de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por su apoyo financiero para la realización de este proyecto de tesis.

## Resumen

El estudio de los procesos biológicos es de suma importancia en el entendimiento de los sistemas que componen el cuerpo humano y de cómo sus interacciones derivan en una función biológica. Para ello, el desarrollo de modelos facilita la comprensión del comportamiento del sistema. En muchos casos, los modelos son ecuaciones matemáticas derivadas de diagramas que representan las interacciones entre los componentes que conforman al sistema biológico.

En el campo de la neurociencia computacional, el modelado matemático y la simulación computacional han sido combinadas junto con la experimentación en laboratorios para el mejor entendimiento de la transmisión sináptica, que es la base fisiológica del funcionamiento del sistema nervioso central. Las neuronas son conocidas como los motores computacionales del cerebro para los cuales la sinapsis es el medio de enlace de las señales químicas y eléctricas. Los diferentes tipos de plasticidad sináptica y las diferentes escalas de tiempo sobre las cuales operan sugieren que la sinapsis tiene un papel clave en el proceso de transmisión de información.

Esta tesis se enfoca en proponer un modelo estocástico que permita estudiar la etapa postsináptica del cáliz de Held, el cual describa la interacción entre los canales iónicos y el neurotransmisor. El funcionamiento de los receptores es descrito mediante esquemas cinéticos propuestos en base a datos experimentales ya reportados. Estos esquemas se simularon utilizando algoritmos estocásticos y analizando las distintas escalas de tiempo implicadas para identificar cómo es que cada modelo de estados reproduce las características de facilitación y desactivación que caracteriza a los receptores postsinápticos.

# Capítulo 1

## Introducción

En un mundo cambiante en donde las nuevas tecnologías avanzan a pasos agigantados, han provocado que la sociedad demande que las universidades asuman un papel estratégico en el desarrollo del capital humano, propiciando conocimientos, tecnologías y los valores que se requieren para la formación de profesionistas e investigadores con nuevas y múltiples competencias, con la capacidad para la comprensión y el abordaje de problemas interdisciplinarios, así como para la asimilación y formulación de nuevos conocimientos.

Dentro de las nuevas disciplinas que han emergido de estas necesidades, la Ingeniería de Procesos se ha ocupado por responder adecuada y oportunamente a las exigencias cambiantes, extendiendo sus metodologías a otros campos, entre los cuales figuran la Biotecnología, el sector Agroalimentario y la Biomédica, todas ellas ligadas alrededor de los problemas planteados por las transformaciones químicas y físicas, que requieren nuevas técnicas y conocimientos. Por ello esta disciplina se apoya del conocimiento actual de técnicas tradicionalmente usadas en matemáticas, física y química para construir modelos de cada una de las unidades de proceso que integran una planta química, una refinería, una cadena de suministro o incluso una célula viva. La Ingeniería de Proceso es una disciplina multidisciplinaria y adaptable, que usa los conocimientos científicos para lograr una comprensión detallada de sistemas complejos en donde están involucradas reacciones químicas y procesos de transferencia de masa y energía, y es gracias a estas tres grandes vertientes que se ha recurrido a esta disciplina para estudiar

procesos biológicos, debido a que es un campo que aplica conceptos y métodos físico-matemáticos para estudiar numerosos aspectos de los organismos vivos, que se pueden modelar como un conjunto de reacciones químicas que tienen lugar dentro de las células, las cuales transforman energía.

El mayor aporte de la Ingeniería de Procesos en la Biología se enfoca en el campo del modelado y simulación computacional de los fenómenos principales que ocurren en un proceso biológico. Por tal motivo, esta tesis aborda el estudio de la sinapsis que es la base fisiológica del funcionamiento del Sistema Nervioso Central, la cual consta de estructuras altamente especializadas que permite intercambiar información y enviar señales a células neurales y no neurales, las cuales derivan en una función biológica. En este estudio se han involucrado muchos principios fundamentales de la Ingeniería Química, convirtiéndola en una vertiente atractiva y muy prometedora para la Ingeniería de Procesos.

## Capítulo 2

# Planteamiento del Problema

El modelado y simulación de series de reacciones bioquímicas ha recibido un creciente interés en el contexto de los sistemas biológicos. La biología de sistemas es un paradigma emergente que, entre otras cosas, se centra en el modelado matemático y la simulación de redes de reacciones bioquímicas en los procesos intracelulares [4].

El análisis de redes bioquímicas complejas puede llevarse a cabo en dos marcos conceptuales populares para el modelado. El enfoque determinista, que requiere la solución de sistema de ecuaciones diferenciales ordinarias o parciales (ecuaciones de velocidad de reacción) considerando a las concentraciones como variables de estado continuo, y el enfoque estocástico, que consiste en resolver la ecuación química maestra. Esto permite describir la dinámica de las especies químicas a partir de la distribución de probabilidad asociada al conjunto de reacciones [4]. No en todos los casos un enfoque determinístico brinda resultados válidos, esta situación ocurre cuando consideramos un número reducido de moléculas presentes en el sistema, ya que las soluciones deterministas estimarían una cantidad promedio de moléculas asumiendo homogeneidad del sistema, lo cual no se cumple en un régimen de pocas partículas [5].

La plasticidad ha sido estudiada previamente utilizando modelos determinísticos que simulan los eventos principales presentes en este fenómeno [6, 7]. En estos trabajos se hace un análisis basado en modelos que plan-

tean las ecuaciones mínimas asociadas a cada uno de los eventos químicos y eléctricos que ocurren a partir del estímulo presináptico. El presente trabajo propone un modelo estocástico de la etapa postsináptica del cáliz de Held, el cual complementará el modelo de la etapa presináptica propuesto en [8, 9], el cual explica los factores que modulan la secreción rápida.

En la última década se han hecho progresos en el entendimiento de la enfermedad de Alzheimer. Menos estudiadas son las conexiones sinápticas reales de las áreas afectadas del cerebro, como la corteza cerebral, en donde se ha observado una pérdida significativa de la interacción en las membranas sinápticas [10]. En base a este contexto, la presente tesis tiene como meta utilizar las herramientas de modelado y simulación para estudiar el complejo sistema de comunicación química en las sinapsis, en particular en la etapa postsináptica, con el fin de entender los procesos relacionados con enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer.

# Capítulo 3

## Marco Teórico

La sinapsis son estructuras altamente especializadas que permiten a las neuronas intercambiar información y enviar señales a células neurales y no neurales tales como las fibras musculares. Los procesos fundamentales involucrados en la transmisión sináptica son: Un potencial de acción que despolariza la membrana presináptica, provocando la liberación de los neurotransmisores los cuales se enlazan a los receptores, para finalmente generar una respuesta en la neurona postsináptica.

Desde el punto de vista fisiológico, la transmisión sináptica puede dividirse en dos procesos: el proceso presináptico, que determina la liberación del neurotransmisor, y el proceso postsináptico, que rige la interacción entre el neurotransmisor liberado y el receptor localizado en la membrana postsináptica.

La zona presináptica está conformada por lo regular por un botón axónico que contiene en su citoplasma docenas de pequeñas bolsas llamadas vesículas sinápticas. Estas vesículas contienen los neurotransmisores, que son las sustancias químicas que actúan como mensajeros para comunicarse con otras neuronas. Luego de atravesar la hendidura sináptica, el neurotransmisor entra en contacto con la membrana postsináptica, en la cual están los receptores que abren sus canales y permiten convertir la señal química del neurotransmisor en una señal eléctrica intracelular que viaja a través de la neurona y llega nuevamente a un axón donde el ciclo comienza de nuevo. El número de



receptores de la membrana postsináptica es variable y estos sólo responden a un cierto neurotransmisor, de modo que funcionan como cerraduras químicas esperando por su llave [11].

En los procesos sinápticos del sistema nervioso central aparecen más de un tipo de neurotransmisor, para el cual hay más de un tipo de receptor. El glutamato es el neurotransmisor excitador mayoritario en el sistema nervioso central y está implicado en la mayoría de los procesos fisiológicos normales tales como el aprendizaje, la memoria y el desarrollo, pero también en procesos neurodegenerativos como la epilepsia y la enfermedad de Alzheimer. Este neurotransmisor ejerce la función de transmitir la señal nerviosa por interacción con diferentes tipos de receptores; de entre ellos, los mejor estudiados son los canales iónicos llamados AMPA y NMDA, que se encuentran en la mayor parte de las sinapsis glutamatérgicas [12].

Una medida clave en los circuitos neurales son la eficacia y fuerza sináptica las cuales varían con el tiempo. Los procesos celulares como potencialización a largo plazo y la depresión contribuyen en el desarrollo del sistema nervioso. Una gran cantidad de procesos activo-dependientes existen para modular la eficacia sináptica a escalas cortas de tiempo, entre los milisegundos y los minutos. Los cambios activo-dependientes en la transmisión sináptica son resultado de un gran número de mecanismos conocidos como plasticidad sináptica.

La plasticidad sináptica es la forma en la que las neuronas regulan la transmisión de información en el cerebro y se ha propuesto que juega un papel determinante en la capacidad del cerebro para aprender [12]. La plasticidad sináptica puede ser dividida en tres grandes categorías: (1) Plasticidad a largo plazo, involucrando cambios que pueden durar horas; (2) Plasticidad a corto plazo, que se lleva a cabo en cuestión de milisegundos o minutos permitiendo que los circuitos neuronales puedan realizar sus funciones; y (3) Plasticidad homeostática, que involucra ambas plasticidades, permitiendo a las neuronas mantener niveles apropiados de excitación y conectividad en los circuitos neuronales a pesar de los cambios en la estimulación [13].

La plasticidad puede ser clasificada como depresión sináptica o como facilitación sináptica. La depresión se refiere a la reducción progresiva de la respuesta postsináptica durante repetidas actividades presinápticas, mientras que la facilitación es un incremento de la eficacia de la transmisión.

Cada uno de estos procesos de plasticidad es regulado por una gran variedad de mecanismos celulares, los cuales actúan a diferentes escalas de tiempo, y ambos procesos tienen interdependencia [7].

El fenómeno de plasticidad es una característica general de las sinapsis que es controlada por las etapas pre y postsináptica. La primera de estas etapas controla la liberación del neurotransmisor en respuesta al estímulo recibido por la neurona transmisora. La segunda etapa regula la respuesta de la neurona receptora de acuerdo a la distribución espacio-temporal del neurotransmisor y a la cinética de los canales receptores. Entre ambas etapas se encuentra el espacio sináptico que también participa en el proceso debido a que no está vacío, lo que hace que la difusión del neurotransmisor no sea libre, ya que en él se encuentran mecanismos como los transportadores de glutamato que eliminan las moléculas liberadas con una cinética propia, además de proteínas cuya función es reciclar los residuos del neurotransmisor [14].

La etapa presináptica ha sido estudiada en diferentes especies, aunque principalmente se ha utilizado como modelo, experimental y teórico, al cáliz de Held [15]. La etapa postsináptica también ha sido estudiada, tanto con técnicas únicamente experimentales como con aquéllas que incluyen experimentación y modelado [2]. En estos trabajos, el proceso postsináptico es registrado bajo diferentes condiciones de estimulación que llevan a la neurosecreción. Luego, se proponen modelos para los receptores sensibles a los neurotransmisores con el objetivo de entender la cinética de la respuesta postsináptica, la cual se sabe que está en función del número de receptores abiertos y su disposición, que a su vez están determinadas por el coeficiente de difusión y el número de moléculas de glutamato [16].

En cuanto a escalas temporales, se ha observado que la inactivación de los canales de calcio y la activación de los auto-receptores en la presinapsis actúan en escalas de tiempo más lentas, mientras la desensibilización de los canales receptores de la postsinapsis, y la interacción entre las vesículas y las paredes de la etapa presináptica se llevan a escalas de tiempo más rápidas [7]. Esto indica que existe una gran cantidad de procesos activo-dependientes que modulan la eficacia de la sinapsis los cuales pueden ir desde la escala de microsegundos hasta una escala de minutos [6].

La plasticidad se ha estudiado bajo un enfoque de sistemas considerando

que para la etapa presináptica la cantidad de neurotransmisor es una función del tiempo  $T(t)$ ; esta cantidad se calcula como el producto de la probabilidad de liberación por el número disponible de vesículas listas para secretar [6]. Una limitante esencial de este tipo de modelos es que la probabilidad de liberación es considerada una función lineal, siendo que hay una gran no-linealidad en el acople estímulo-secreción [14].

Un enfoque completamente distinto a los trabajos arriba descritos ha sido publicado en [17]. La idea central de esta investigación fue modelar la zona activa del cáliz de Held, que es donde se lleva a cabo la secreción presináptica, incluyendo un modelo para cada uno de los mecanismos biológicos reales que participan en la liberación del neurotransmisor. Los modelos incluidos fueron interpretados estocásticamente de manera que el modelo de presinapsis es resuelto usando métodos de tipo Monte Carlo. Así, no se estima la probabilidad de secreción, sino que se calcula el número de vesículas que secretan el glutamato, en cada paso del tiempo, en respuesta a un pulso de despolarización. Se modela también la cooperatividad cinética de la secreción (no-linealidad), lo cual refleja el evento biológico de que múltiples iones de  $Ca^{2+}$  se enlazan a las vesículas sensibles de  $Ca^{2+}$  con el fin de desencadenar la fusión de las vesículas. Con este modelo, ha sido posible estudiar la respuesta presináptica del cáliz de Held así como explicar las observaciones experimentales de cooperatividad cinética durante la madurez del trayecto auditivo. Este trabajo, junto con [9, 8], constituyen el antecedente directo de la presente tesis.

## *Vesículas secretoras*

Las neuronas transfieren su información eléctrica a otras células excitables a través de sitios llamados sinapsis, de acuerdo a su estructura y forma en la en que transmiten el impulso nervioso estas se dividen en dos tipos eléctricas y químicas.

Este proyecto se centra en estudiar la sinapsis del tipo química, este tipo de sinapsis se caracterizan porque las membranas de las terminales pre y postsinápticas están separadas por una hendidura sináptica. El terminal presináptico se caracteriza por contener abundantes vesículas sinápticas, que son organelos revestidos que contienen a los neurotransmisores; que al llegar un potencial de acción al terminal presináptico se induce la apertura de los canales de calcio sensibles a el voltaje, subiendo así los niveles de calcio

intracelular se activa la exocitosis de las vesículas sinápticas que liberan el neurotransmisor hacia la hendidura sináptica.

Luego de la exocitosis la membrana de la vesícula sináptica se integra con la membrana presináptica, al secretar proteínas que se asocian con la membrana de la vesícula y forman unas vesículas revestidas que se reciclan de nuevo hacia el botón sináptico. El proceso de reciclado de las vesículas sinápticas es una característica integral de la función presináptica y determina su habilidad para mantener la liberación del neurotransmisor durante una actividad repetitiva. De esta forma, la recuperación de la membrana vesicular se convierte en un elemento crucial para el reciclado de las vesículas sinápticas y un punto crucial para la modulación de la plasticidad sináptica.

## *Neurotransmisores*

Los neurotransmisores se clasifican generalmente en dos categorías principales con respecto a su actividad, en agonistas y antagonistas. Los neurotransmisores agonistas ejercen efectos excitatorios en la neurona, aumentando la probabilidad de que en la neurona se genere un potencial de acción; por otra parte los neurotransmisores antagonistas ejercen efectos inhibidores, al disminuir la probabilidad de generar un potencial de acción en la neurona. En ocasiones algunos neurotransmisores, pueden ejercer efectos excitatorios e inhibitorios, todo depende del tipo de receptores que se encuentren presentes.

El glutamato es el principal neurotransmisor excitador del Sistema Nervioso Central y podemos encontrarlo en concentraciones elevadas en las terminales nerviosas, así como en bajas concentraciones en el espacio extracelular ( $<1 \mu\text{M}$ ) [18]. El glutamato participa en varios procesos fisiológicos de importancia, así como en varias patologías, entre las que se encuentran la isquemia cerebral y el mal de Parkinson.

La comunicación intercelular en el SNC requiere controlar la duración e intensidad de acción del neurotransmisor, después de liberarse en la sinapsis. Para terminar con la respuesta de transmisión sináptica, los neurotransmisores son inactivados a través de su captura por unas proteínas conocidas como transportadores, los cuales se encuentran en las neuronas y en las células gliales perisinápticas. El proceso de extracción de glutamato del espacio sináptico es llevado a cabo en su mayoría por el transportador EAAT2 (GLT) por lo cual se considera que la función de esta molécula es fundamental para man-

tener el equilibrio de transporte del neurotransmisor hacia el interior de las células gliales y limitar el tiempo de activación de los receptores y así evitar la aparición de daño excitotóxico [18]. El proceso excitotóxico es considerado el principal mecanismo de muerte celular por la sobreactivación de los receptores; la regulación de la neurotransmisión glutamatérgica es crítica, no solo por las propiedades de señalización atribuidas a los niveles y la actividad del glutamato y su receptor, sino también por la muerte celular excitotóxica. Diversos hallazgos experimentales relacionados con la posible toxicidad de los neurotransmisores excitadores han dado lugar a la teoría excitotóxica, la cual postula que los niveles excesivos de glutamato o la hipersensibilidad de sus receptores se relacionan con la degeneración neuronal [19].

## *Receptores iónicos*

La excitabilidad se puede definir como la propiedad que tienen las células para generar respuestas eléctricas ante los estímulos que reciben. Esta propiedad es fundamental para el procesamiento de la información en la red neuronal, las respuestas pueden variar dependiendo de los patrones repetitivos o irregulares de las descargas. La variación de estas respuestas está dada por las propiedades celulares, la morfología y la distribución de los canales iónicos sobre la membrana celular; cabe mencionar que las membranas celulares son permeables a más de un ión.

Las descargas eléctricas permiten transmitir la información entre neuronas, estos impulsos eléctricos se generan porque las células presentan cambios en su estado o potencial de reposo. Como se sabe, el mecanismo de transmisión de la información en el SNC se basa en cambios del potencial en la membrana, también conocidos como potenciales de acción o potenciales sinápticos. No debe olvidarse que el potencial de reposo es el potencial del que emerge el potencial de acción y al cual este último vuelve a regresar [20, 21].

Las membranas neuronales en reposo son permeables al sodio  $Na^+$ , al potasio  $K^+$ , al cloro  $Cl^-$  y algunas también al calcio  $Ca^{2+}$ . Esta característica está dada por los canales iónicos, que se encargan de regular la conductancia (facilidad de la membrana para transportar corriente eléctrica mediante los iones) en reposo. Estas conductancias y permeabilidades (medida de la facilidad con que un ión pasa a través de la membrana) de reposo son un

mecanismo fundamental para el control de la excitabilidad neuronal. La presencia de canales dependientes del voltaje y que se encuentran abiertos en su estado de reposo tiene gran importancia en la excitabilidad de las neuronas ya que acercan o alejan dicho reposo del potencial umbral para la generación de potenciales de acción.

Las neuronas postsinápticas glutamatérgicas poseen tres tipos distintos de receptores ionotrópicos de glutamato (GluRs): el kainato, el 2-amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxalone ácido propiónico (AMPA), y N-metil-D-aspartato (NMDA); como caso particular esta tesis se enfocará en el estudio de los receptores AMPA y NMDA, que son los principales representantes de la acción sináptica excitadora en presencia de glutamato. El aspecto fundamental del funcionamiento del ligando (neurotransmisor) y la compuerta del canal iónico, es la relación que hay entre el enlace y desenlace del ligando así como la apertura y cierre del canal iónico. Se sabe que los receptores de glutamato son tetrámeros y cada subunidad tiene un solo sitio de enlace y desenlace. En los receptores NMDA hay tres sitios para el glutamato y dos sitios para el coagonista (glicina), mientras que en los receptores AMPA los tres estados de enlace son para el glutamato [19].

Los receptores AMPA se encuentran en las neuronas postsinápticas excitatorias, y son mediadores en la mayor parte de la transmisión sináptica rápida en todo el SNC. La transmisión sináptica rápida se refiere al hecho de que el canal iónico abre y cierra rápidamente en respuesta a el enlace de un ligando. Los receptores AMPA tienen una baja permeabilidad a los iones de calcio para evitar la toxicidad en estas neuronas.

En la literatura se han reportado dos esquemas cinéticos diferentes para este tipo de receptores, el primer modelo fue propuesto por Jonas en 1993 [1] (Fig. 3.1). En este modelo se proponen siete estados por los cuales puede transitar el receptor; en este esquema se representan tres estados cerrados ( $e_0$ ,  $e_1$  y  $e_2$ ), tres estados inactivos ( $e_4$ ,  $e_5$  y  $e_6$ ) y un estado abierto ( $e_3$ ), siendo este último el encargado de generar el impulso eléctrico. Además dentro de este modelo existen tres velocidades de transición que son afectadas por el glutamato ( $q_{01}$ ,  $q_{12}$  y  $q_{45}$ ).

Heckmann et al [2] propusieron un segundo modelo en 1995 (Fig. 3.2). Este modelo considera que el receptor puede transitar entre cinco estados, antes de poder pasar a su estado de activación. A diferencia del esquema

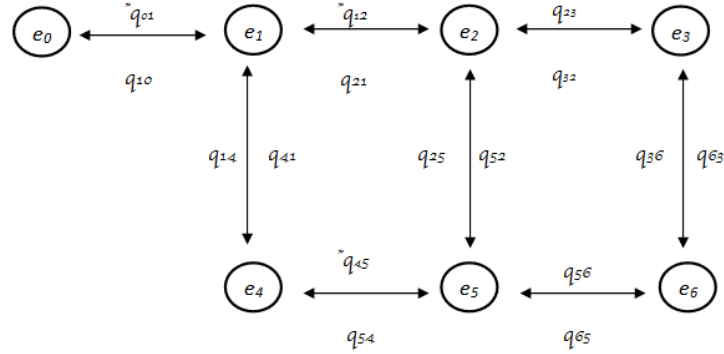


Figura 3.1: Esquema cinético de receptores AMPA propuesto por Jonas [1]

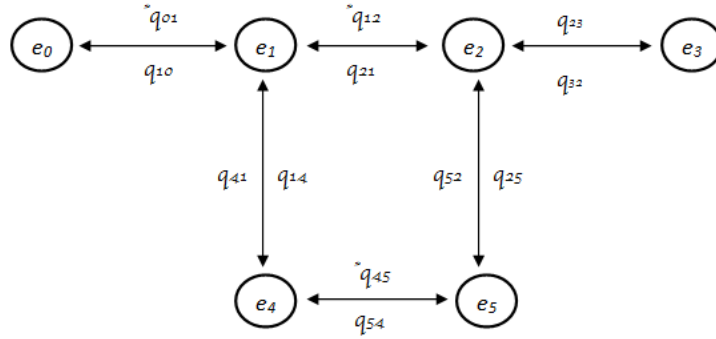


Figura 3.2: Esquema cinético de receptores AMPA propuesto por Heckmann [2]

anterior este modelo solo considera dos estados inactivos ( $e_4$  y  $e_5$ ) y de la misma forma existen tres velocidades de transición ( $q_{01}$ ,  $q_{12}$  y  $q_{45}$ ) que varían de acuerdo a el número de moléculas de glutamato presentes en el tiempo.

El receptor de NMDA se genera a partir de dos familias de subunidades separadas GluN1 y GluN2. A diferencia de los otros receptores ionotrópicos, los receptores NMDA son activados por la unión simultánea de glutamato y glicina (coagonista), ambos neurotransmisores deben unirse con el fin de activar al receptor. Este receptor debido a su respuesta más lenta a los estímulos de los neurotransmisores, se encarga de modular la potenciación a largo plazo (LTP por sus siglas en inglés). Lester y Jahr propusieron un modelo cinético para los receptores NMDA [3] (Fig. 3.3). En este modelo se proponen cinco estados por los cuales puede transitar el receptor, de los cuales existen tres

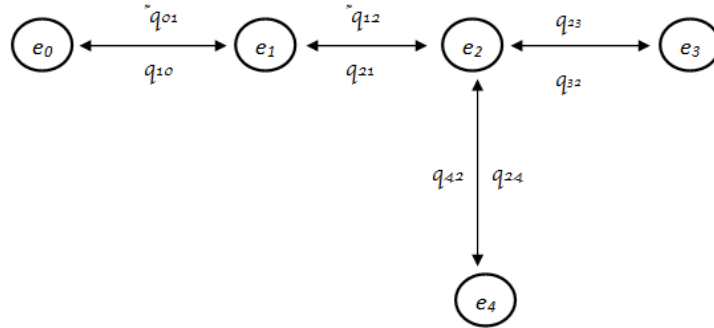


Figura 3.3: Esquema cinético de receptores NMDA propuesto por Jahr [3]

estados cerrados ( $e_0$ ,  $e_1$ ,  $e_2$ ), un estado inactivo ( $e_4$ ) y el estado abierto ( $e_3$ ). Como en los esquemas anteriores también existen velocidades de transición que son afectados por el glutamato ( $q_{01}$  y  $q_{12}$ ).



# Capítulo 4

## Objetivos

Proponer un modelo computacional que considere los mecanismos más importantes de la etapa postsináptica de una neurona del Sistema Nervioso Central. Este modelo debe permitir el estudio de las respuestas del sistema neuronal ante varios estímulos o condiciones que son difíciles de llevar a cabo experimentalmente, en particular permite analizar la respuesta postsináptica en tiempo y espacio. Para entender el complejo sistema de comunicación química que hay entre el neurotransmisor y los receptores iónicos se plantearon los siguientes objetivos particulares:

1. Desarrollar los algoritmos estocásticos de dos modelos de receptor AMPA, tales que permitan simular diferentes protocolos para el estudio de la etapa postsináptica.
2. Estudiar la respuesta de receptores AMPA y NMDA, usando modelos reportados en la literatura, realizando simulaciones en respuesta a diferentes dinámicas de neurotransmisor.
3. Identificar las condiciones para las cuales los receptores postsinápticos generan una respuesta de facilitación o desactivación.
4. Establecer en qué escalas temporales se tiene una mayor interacción entre el neurotransmisor y los dos tipos de receptores postsinápticos.

5. Definir un modelo geométrico de zona activa que incluya los mecanismos de secreción y difusión del neurotransmisor así como la distribución espacial de los receptores.
6. Identificar la sensibilidad de la respuesta postsináptica ante diferentes condiciones geométricas.

# Capítulo 5

## Planteamiento de las Simulaciones

El objetivo general de todas las simulaciones que se llevaron a cabo fue estudiar la respuesta postsináptica bajo dos enfoques muy importantes: el primero, identificar la sensibilidad de los modelos de receptores iónicos (AMPA y NMDA) que han sido propuestos en la literatura ante diferentes dinámicas de glutamato; el segundo, estudiar la respuesta postsináptica vista desde una perspectiva geométrica en la cual se consideran diferentes escenarios, tales como la distancia entre membranas, distribución de los receptores y el número y ubicación de las vesículas secretoras del neurotransmisor; esto con la finalidad de entender cuál es el papel que juega cada uno de estos componentes. Todos los resultados obtenidos de esta serie de simulaciones permitirán identificar bajo qué condiciones los receptores generan una respuesta de plasticidad y cuáles son los elementos principales que contribuyen con mayor sensibilidad en la respuesta postsináptica ante diferentes escenarios de estímulo.

### 5.1. Simulaciones Temporales

Durante esta primer etapa de simulaciones se considero la implementación de los modelos receptores de propuestos por ([1],[2] y [3]); resolviendo la transición de los receptores que hacen por cada uno de los estados propuestos

para cada modelo mediante un algoritmo estocástico utilizando la metodología de Gillespie. Hasta este punto se consideró que las simulaciones iban a consistir en resolver los sistemas de ecuaciones resultantes de cada modelo mediante la metodología antes mencionada sin considerar ningún parámetro de geometría, es decir solo se implementaron una serie de funciones que describen diferentes perfiles de glutamato con los cuales se estimulan a los receptores. A continuación se describen las cuatro dinámicas de glutamato que se propusieron.

**Estímulo constante:** Se propone que los receptores son estimulados con concentraciones constantes de glutamato durante todo el tiempo de simulación (5000, 500 y 50 moléculas); este tipo de dinámica permitirá identificar cuáles son los tiempos de apertura y cierre para cada modelo.

**Estímulos de corta duración y diferente intensidad:** Con estas dinámicas se proponen estímulos de diferentes concentraciones de glutamato a cortas escalas de tiempo, y de esta forma observar que modelo considera de forma más apropiada la propiedad de facilitación de los receptores.

**Tren de diferente intensidades de estímulo:** En estas simulaciones se considero dos casos de tren de pulsos, en el primer caso se plantea que el primer estímulo del tren es de mucho menor intensidad que el segundo y para el segundo caso se invierte el orden de los estímulos, para ambos casos se utilizaron condiciones de alta o baja concentración en un lapso corto de tiempo.

**Diferentes frecuencias de estímulo:** En estas pruebas se somete a los receptores ante diferentes frecuencias de estímulo manteniendo como valor constante la intensidad de los pulsos (5000 moléculas); esto permitirá simular una actividad periódica de la etapa presináptica.

### 5.1.1. Algoritmo de Gillespie

El algoritmo de Gillespie es un método matemático estocástico que se ha utilizado para resolver numéricamente esquemas cinéticos de reacciones

químicas en donde la solución determinística no es adecuada para sistemas que se encuentran cerca de las inestabilidades termodinámicas y/o químicas (pocas moléculas); este tipo de algoritmos son muy adecuados en este tipo de problemas biológicos en donde se sabe que la ocurrencia de estos eventos es totalmente aleatorio. La aplicación de este algoritmo se puede extender a resolver esquemas tipo cadenas de Markov como lo son los modelos reportados para los receptores postsinápticos. La idea principal de este algoritmo se basa en calcular la probabilidad (ecuación 5.1) de que ocurra una reacción o en este caso, una transición de cualquiera de los estados en un intervalo de tiempo  $\Delta t$ ; en esta probabilidad están consideradas las velocidades de transición ( $q$ ) definidas por  $h_\mu$  en la ecuación, el número de receptores en cada estado  $[e]$ , en este caso representado por  $c_\mu$ . Para poder solucionar el sistema de ecuaciones que describe las probabilidades asociadas a cada uno de los modelos de receptores que es descrito en los apéndices A,B,C se siguieron los siguientes pasos:

$$P_\mu = a_\mu = h_\mu c_\mu \quad (5.1)$$

1. Definir las condiciones iniciales (número de receptores presentes en cada estado  $x_1, x_2, \dots, x_M$  al tiempo  $t = 0$ , los valores de las velocidades de transición ( $q$ ) y el tiempo de simulación  $t_{sim}$ ).
2. Calcular las probabilidades individuales de cada estado así como la total del sistema y finalmente la normalización de cada probabilidad individual mediante las siguientes ecuaciones:

$$a_\mu = q_\mu c_\mu \quad (5.2)$$

$$a = \sum_{\mu=1}^M a_\mu = \sum_{\mu=1}^M q_\mu c_\mu \quad (5.3)$$

$$P = \frac{a_\mu}{a} \quad (5.4)$$

(M representa el número de estados)

3. Generar dos números aleatorios entre 0 y 1 ( $r_1$  y  $r_2$ ) para poder calcular la probabilidad de transición de la reacción que se llevará a cabo de acuerdo a el rango asociado por la ecuación 5.5 y finalmente calcular el avance de tiempo  $\Delta t$  en el que transcurrió la transición de estados.

$$\sum_{\nu=1}^{\mu-1} a_{\nu} < r_2 a \leq \sum_{\nu=1}^{\mu} a_{\nu} \quad (5.5)$$

$$\Delta t = \left( \frac{1}{a} \right) \ln \left( \frac{1}{r_1} \right) \quad (5.6)$$

4. Después de definir la transición que se realizó en el paso anterior se actualiza el número de receptores que se encuentran presentes en cada estado (Por ejemplo supongamos que ocurriera una transición del tipo  $e_1 + e_2 \rightarrow 2e_3$ . Se tendría que remplazar  $x_1, x_2$  y  $x_3$  por  $x_1 - 1, x_2 - 1$  y  $x_3 + 2$ , respectivamente la transición ).
5. Repetir los pasos 2, 3 y 4 hasta que el valor de  $t$  sea igual o mayor al valor del tiempo de simulación que se estableció como condición inicial.

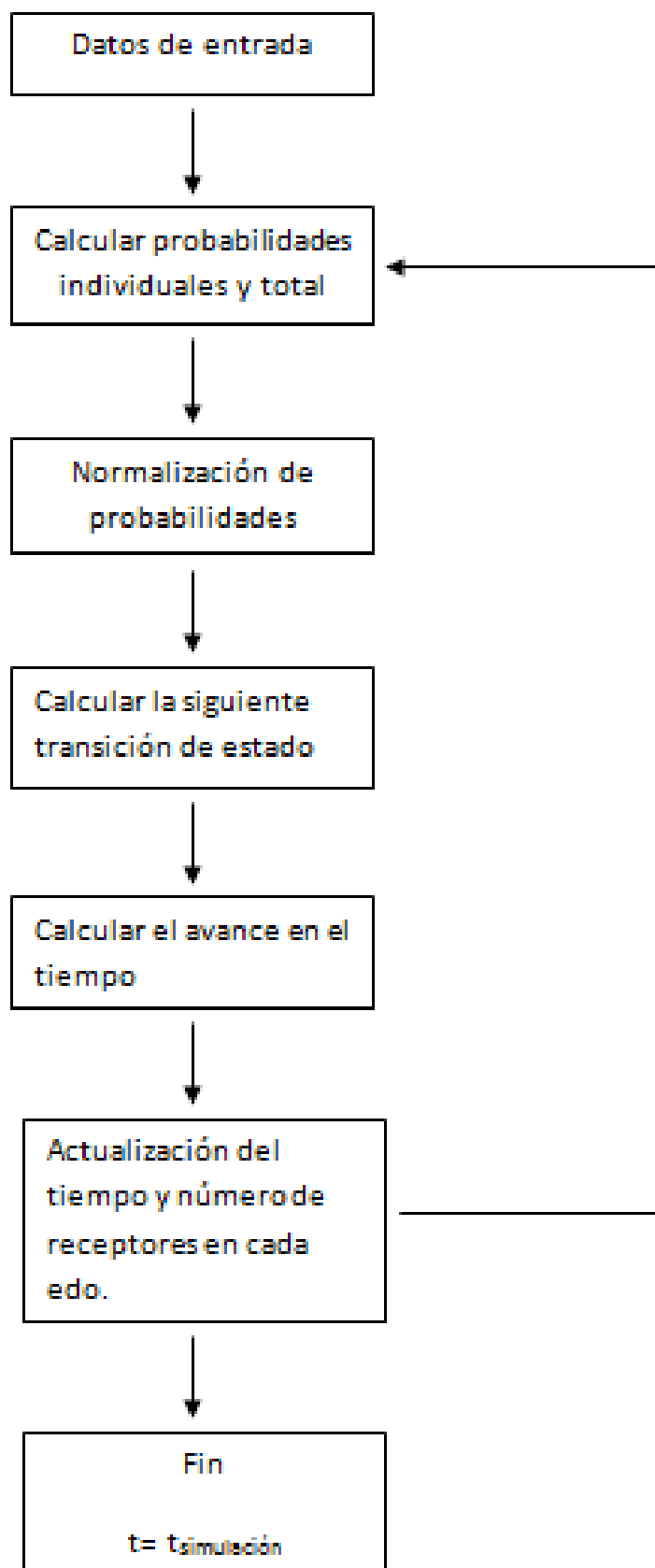


Figura 5.1: Diagrama de bloques del algoritmo de Gillespie

<b>Parametros Geométricos</b>	
Radio	-
Altura	-
Resolución espacial	
<i>Glutamato</i> Coeficiente de difusión	-
Tipo de estímulos	Constante Corta duración y diferente intensidad Tren de diferentes intensidades Diferentes frecuencias
Número de vesículas	-
Distribución de las vesículas	-
Número de receptores	160
Distribución de los receptores	-

Cuadro 5.1: Parámetros implementados en las simulaciones tipo Gillespie

## 5.2. Simulaciones Geométricas

Dentro de las suposiciones importantes que se realizaron durante todas las simulaciones, se consideró que la representación del dominio (hendidura sináptica y terminales pre y postsinápticas) fueran modeladas de acuerdo a [22], en donde se propone que todos los fenómenos involucrados en la sinapsis se llevan a cabo en un cilindro de  $0.1\mu\text{m}$  de radio (ver Fig. 5.2). También se asume que una vez que se han secretado las moléculas de glutamato ( $N_{Glu}=10000$ ) de la vesícula presináptica al tiempo  $t=0$ , las moléculas se difunden con una constante de difusión  $D_{glu}=150 \mu\text{m}^2/\text{s}$ .

En esta segunda etapa de estudio del proceso de sinapsis, se analizaron los papeles que juegan la distancia entre las membranas pre y postsinápticas, los efectos de aglomeración de los receptores (reducción del área donde se distribuyen los receptores), y por último, el número de vesículas secretoras de glutamato; todos estos nuevos parámetros no habían sido incluidos en la primer etapa de pruebas.



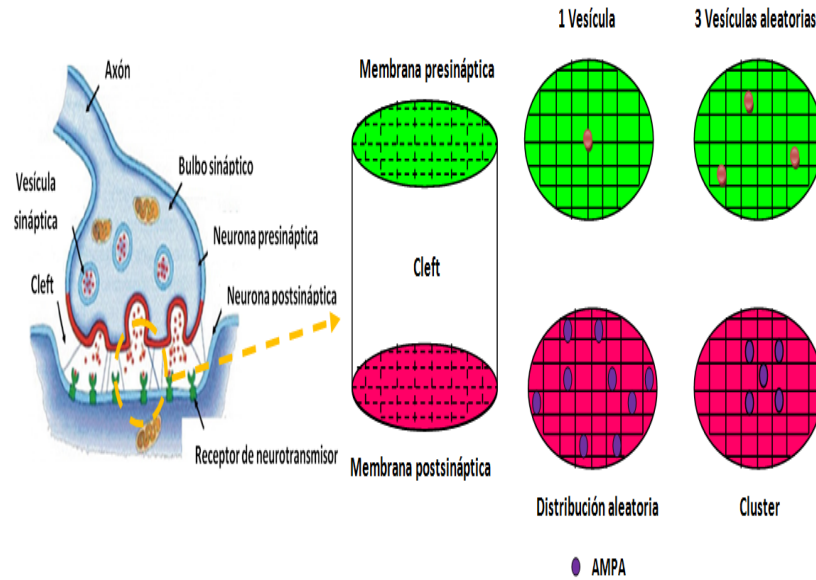


Figura 5.2: Modelo geométrico propuesto

**Variación de la altura de la hendidura:** En estas corridas se prueba la sensibilidad de los receptores ante una variación en la altura de la hendidura (incremento en la altura del cilindro del dominio del sistema) manteniendo como parámetros fijos el radio del disco donde se encuentran distribuidos los receptores y el número de fuentes secretoras de glutamato (una o tres vesículas).

**Conglomerado:** Durante estas simulaciones se modifica el radio del disco que representa la membrana postsináptica ( $0.1\mu\text{m}$  y  $0.025\mu\text{m}$ ) y teniendo como valores fijos las otras dos variables (altura de la hendidura y número de vesículas secretoras). Al reducir el diámetro de la membrana se provoca que exista una mayor densidad de receptores por unidad de área, y esto permitirá identificar si este efecto incrementará la respuesta postsináptica.

**Número de vesículas secretoras:** En estas pruebas se varía el número y ubicación de las vesículas que liberan el glutamato (1 o 3 vesículas), en el caso de una sola fuente secretora esta se encuentra justamente centrada y por encima de los receptores, y para el caso de tres vesículas estas se pueden ubicar aleatoriamente pero siempre dentro de los

límites permitidos de la parte superior del cilindro de simulación, estas condiciones se realizaron para las dos pruebas descritas anteriormente.

La difusión (de glutamato) hace referencia al movimiento aleatorio de las partículas siguiendo la dirección del gradiente de mayor a menor concentración. En este caso el modelado de la difusión, significa calcular la cantidad libre de glutamato que se encuentra en el hendidura a cada instante, considerando que algunas moléculas se pueden encontrar libres y que otras se pueden enlazar a los receptores postsinápticos. Estos cálculos permiten describir la dinámica de la cantidad de glutamato considerando su dependencia espacial y temporal, un ejemplo de ello es la ecuación de Fick que en términos de coordenadas cilíndricas de acuerdo al modelo definido para la sinapsis se describe por la ecuación 5.7; sin embargo debido a la naturaleza aleatoria y a la escala espacial tan pequeña en la cual se lleva a cabo la difusión una segunda opción para resolver esta ecuación puede ser utilizando una solución tipo Random-Walk 3D y dividiendo en pequeños compartimiento cúbicos el cilindro, permitiendo que los neurotransmisores puedan moverse en cualquier dirección de los cubos

$$\mathbf{j}_A = -\rho D_{Glu} \nabla w_{Glu} \quad (5.7)$$

Este acercamiento permite tener un método más robusto para calcular la difusión en cualquier tipo de geometría, sin embargo necesita la implementación de métodos estocásticos los cuales elevan el tiempo computacional de la simulación numérica. A pesar de su complejidad, estos esquemas estocásticos permiten el estudio de las dinámicas de difusión con más flexibilidad y con parámetros geométricos más realísticos como los que se discuten en [22]. El algoritmo de Random-Walk 3D para el modelo de sinapsis mostrado en la figura 5.2; define una relación entre la resolución temporal  $\Delta t$  y la discretización espacial  $\Delta x$  dada por:

$$\Delta t = (\Delta x)^2 / 4D_{Glu} \quad (5.8)$$

Esta relación implica que si  $\Delta x$  se reduce, el avance en el tiempo  $\Delta t$  también se reducirá de forma cuadrática, de tal forma que tomará mayor cantidad de iteraciones terminar la simulación, incrementando el tiempo computacional.

### 5.2.1. Algoritmo de Monte Carlo

Este método fue desarrollado originalmente por J. Von Neumann y S. Ulam [23], este algoritmo es usado especialmente para resolver fenómenos con cierta incertidumbre en los valores de entrada y también modelos microscópicos en donde las variables principales (partículas), se pueden mover de forma aleatoria [17]. En este caso en particular el algoritmo de Monte Carlo se utilizó principalmente para simular la difusión del neurotransmisor de glutamato proveniente de una rápida secreción de la vesícula sobre la zona activa, la implementación del algoritmo se utilizó en el método de Random-Walk 3D; el cual resulta ser un método muy confiable para calcular las probabilidades de que una partícula se pueda mover o no entre cualquiera de sus posibles trayectorias (una, dos o tres dimensiones) para cada paso en el tiempo.

Gran parte de las ventajas que ofrece el algoritmo de Monte Carlo es que brinda una solución muy apropiada para cualquier tipo de dominio geométrico, incluso en condiciones con pocas partículas o distribuciones no homogéneas dentro del dominio del sistema, como lo es justamente nuestro caso de estudio. Una restricción de este algoritmo estocástico, es que requiere mucho tiempo de cómputo, pero a cambio, es adecuado para simulaciones con escalas temporales cortas y que implican a su vez escalas de alta resolución espacial, en este trabajo el algoritmo de Monte Carlo implementado es una extensión del utilizado en [22].

De misma forma se utilizó un algoritmo tipo Monte Carlo para la solución de transición de estado de los modelos de receptores, el cual evalúa la probabilidad de transición a cada paso en el tiempo considerando las velocidades de transición y el número de receptores presentes en cada estado. A continuación se describen las funciones que se implementan en el algoritmo utilizado:

1. ***Datos de entrada:*** Se define el número de moléculas de Glutamato, número de receptores iónicos, número de vesículas, radio y altura del cilindro y tiempo de simulación .
2. ***Data:*** Se establecen las condiciones iniciales para el tiempo  $t=0$ .
3. ***Makegrid:*** Se Realiza la discretización del dominio de la zona activa.

4. **Chandis**: Distribuye las vesículas secretoras y los receptores iónicos, este tipo de distribución puede ser en una posición fija, aleatoria o tipo aglomerado la cual es exclusiva solo en los receptores.
5. **Districa**: Se Distribuyen las moléculas de glutamato sobre la primer capa del dominio del cilindro.
6. **Walk**: Resuelve el problema de difusión de las moléculas de glutamato con el método de Random-Walk.
7. **Kine**: Se resuelve el sistema de ecuaciones de transición de receptores.

Parametros Geométricos	
Radio	$r = 0,1\mu m$
Altura	$h = 0,02\mu m$ y $h = 0,01\mu m$
Resolución espacial	$\Delta x = 0,002\mu m$
<i>Glutamato</i>	
Coeficiente de difusión	$D_G = 150\mu m^2/s$
Número de vesículas	1 y 3
Distribución de las vesículas	centrada y aleatoria
Número de receptores	160
Distribución de los receptores	aleatoria y cluster

Cuadro 5.2: Parámetros implementados en las simulaciones tipo Monte Carlo

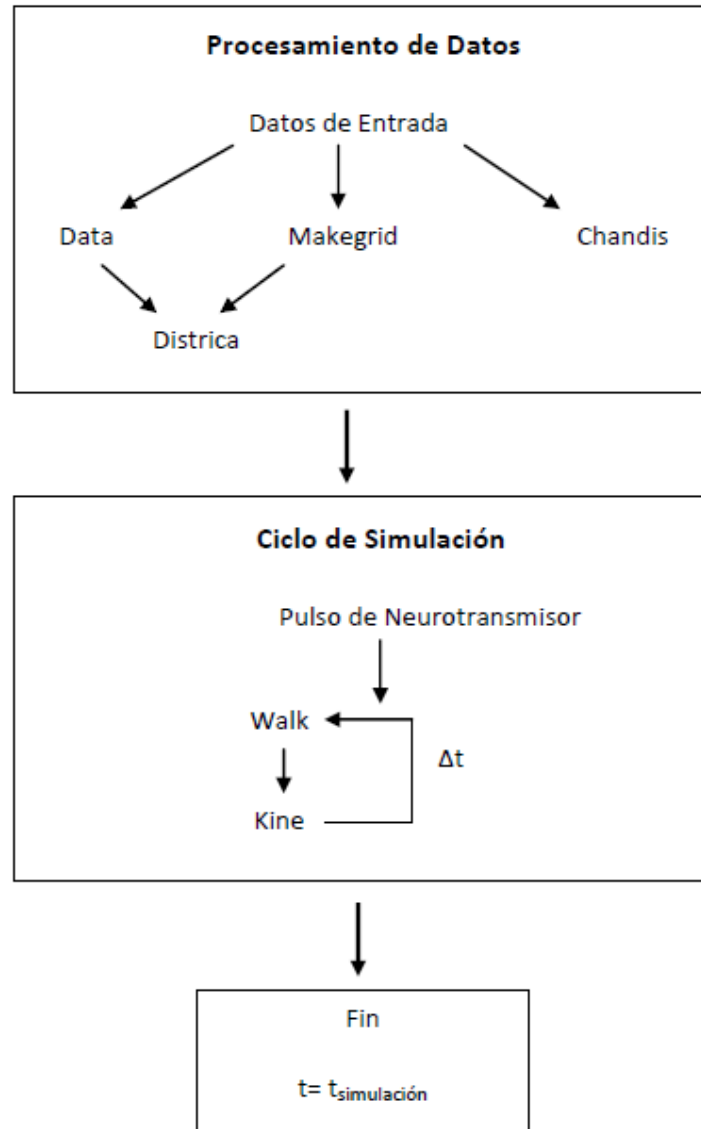


Figura 5.3: Diagrama de bloques del algoritmo de Monte Carlo

# Capítulo 6

## Resultados

### 6.1. Resultados Simulaciones Temporales

#### 6.1.1. Dinámicas de Glutamato

Con el objetivo de seleccionar los modelos adecuados para la implementación de la etapa postsináptica, se realizaron pruebas a algunos modelos de canales receptores AMPA y NMDA que han sido reportados. Las pruebas consistieron en implementar el modelo cinético en Matlab y resolverlo mediante un algoritmo estocástico basado en el algoritmo de Gillespie. A continuación se realizaron simulaciones de la respuesta de los receptores ante diferentes dinámicas de glutamato, las cuales representan diferentes condiciones de secreción del axón presináptico. Estas pruebas fueron diseñadas para identificar cómo es que cada esquema cinético reproduce las características de facilitación y desactivación de los propios receptores postsinápticos.

En todos los escenarios se realizaron 50 simulaciones para generar el valor de la media. Estos resultados se compararon con la función ODE15 de Matlab (líneas punteadas), que obtiene la solución determinista del sistema de ecuaciones diferenciales con un Runge-Kutta de 4to orden.

## Dinámicas de receptores postsinápticos

Antes de analizar los resultados obtenidos de las cuatro dinámicas implementadas en los receptores, es importante discutir cómo los canales transitan entre los estados previos antes de llegar al estado abierto. La figura 6.1a muestra las transiciones entre estados del esquema cinético de canales tipo AMPA propuesto por Heckmann [2]. La gráfica muestra cómo los receptores realizan transiciones muy rápidas de los estados  $e_0$  y  $e_2$  (cerrados) hacia otros estados, permitiendo que en cuestión de instantes los receptores se trasladen hacia  $e_1$  y  $e_3$  (cerrado y abierto respectivamente); a medida que transcurre el tiempo los receptores que se encuentran en el segundo estado cerrado y el estado abierto comienzan a migrar hacia el segundo estado desensitizado hasta que casi el 100 % de los receptores se encuentran en  $e_5$  (desactivado).

La dinámica de los receptores con el modelo propuesto por Jonas [1] (Fig. 6.1b) en general sigue casi el mismo comportamiento del modelo anterior; las diferencias radican en tener una mayor población de receptores en el estado  $e_3$ , pero una cantidad menor en  $e_1$  durante los primeros milisegundos. Una vez que se avanza en el tiempo, los receptores salen del estado abierto y comienzan a transportarse hacia los estados inactivos teniendo una mayor preferencia por permanecer en  $e_5$ .

El comportamiento de los receptores NMDA (Fig. 6.2a) modela transiciones demasiado rápidas de los primeros estados cerrados hacia el estado  $e_2$ , permitiendo que éste actuara como una especie de compuerta para la transición al estado abierto, lo cual significa que la velocidad de transición  $q_{23}$  juega un papel muy importante, al limitar el número de receptores que pasan del estado  $e_2$  (cerrado) al estado  $e_3$  (abierto). A medida que transcurre el tiempo de simulación el sistema entra en un estado de equilibrio entre los estados  $e_2$  (cerrado),  $e_4$  (desactivado) y  $e_3$  (abierto).

## Glutamato constante en el tiempo

En la figura 6.3 se muestran los resultados para los modelos AMPA de seis y siete estados, estimulados con diferente número de moléculas de glutamato (5000 = 100 %, 500 = 10 %, y 50 = 1 %) constantes en el tiempo. Realizando un comparativo de ambas gráficas el modelo de Jonas es más sensible a los

estímulos de glutamato, generando una respuesta más intensa del porcentaje de receptores en el estado abierto siendo un 12 % mayor al obtenido por el modelo de Heckmann; este resultado nos da una primera idea que el esquema cinético de siete estados simula de forma más adecuada la propiedad de facilitación (responder a estímulos de corta duración o de pequeña intensidad) de los receptores.

Analizando ambas gráficas con respecto al tiempo de desactivación, los dos modelos tienen los mismos tiempos de desactivación después de ser excitados en presencia de 500 y 50 moléculas (80ms y 30ms respectivamente). Cuando se tiene el estímulo de 5000 moléculas el esquema de seis estados tarda 120ms en desactivarse por completo; este valor es 20ms mayor al que se obtiene con el modelo de Jonas. Esta variación se debe a que los valores de las velocidades de transición que hay entre el primer estado cerrado y desactivado, y los segundos estados cerrados y desactivado son más pequeños en el modelo de Heckmann, lo cual significa que los receptores permanecen muy poco tiempo en cualquiera de los dos estados inactivos.

### **Pulsos de glutamato de diferentes duraciones**

Esta dinámica fue propuesta con el objetivo de identificar cuál es el modelo que mejor reproduce la propiedad de facilitación de los receptores a medida que los estímulos se hacen de corta duración. Los resultados generados por el esquema de siete estados (Fig. 6.4b) son más amplios, esto se debe a que el modelo de estados de Jonas considera un estado inactivo más.

En cuanto a la etapa de desactivación, en el modelo de Heckmann (Fig. 6.4a) los receptores abiertos regresan de nuevo a su estado de reposo en un tiempo más corto (6ms en las tres diferentes intensidades), mientras que en el modelo de Jonas los receptores se desactivaron en 15ms. La diferencia que provoca esta variación en los dos modelos se atribuye a que Heckmann solo considera dos estados desensitizados con respecto a los tres estados que son propuestos por Jonas.



## Trenes de diferentes intensidades de estímulo

### *Incremento en la intensidad de los pulsos de glutamato*

En esta prueba se sometió a cada modelo a una variación en la intensidad de los pulsos, es decir, dos pulsos de diferente intensidad en un lapso corto de tiempo. En términos fisiológicos esta prueba representa el escenario en el cual el axón presináptico recibe dos estímulos continuos, lo cual induce a que más vesículas se difundan hacia la superficie de la membrana presináptica, incrementando la probabilidad de secreción.

En la figura 6.5 se muestran los resultados de esta dinámica con concentraciones pequeñas de glutamato. Se aprecia notoriamente cómo los receptores aumentan su respuesta ante el segundo estímulo. En los dos casos la respuesta correspondiente a este estímulo se incrementa en promedio un 13 % para el modelo de Heckmann y un 19 % para el modelo de Jonas. Este comportamiento en los receptores tipo AMPA nos muestra la gran afinidad que tiene este tipo de canales iónicos por el glutamato, lo cual genera una respuesta de facilitación sináptica.

Por otro lado, la respuesta de los receptores ante dos pulsos de mayor concentración (Fig. 6.6). Es una respuesta de desensitización (desactivación) ante el segundo estímulo, lo cual reduce el número de receptores abiertos, a pesar de haber más moléculas de glutamato en contacto con los receptores. La intensidad de la respuesta se ve reducida en promedio en un 24 % para el modelo de Heckmann y un 32 % para el modelo de Jonas.

### *Disminución en la intensidad de los pulsos de glutamato*

Finalmente, se realizaron simulaciones con dos pulsos en donde el primer pulso era mayor que el segundo. Esta simulación sólo se realizó para el modelo de Heckmann ya que fue el que presentó una mayor sensibilidad a este tipo de dinámicas de glutamato. Las simulaciones que se realizaron fueron con la misma frecuencia e intensidad que las realizadas en la sección anterior, considerando también los casos de alta y baja concentración.

Los resultados que se obtuvieron para los primeros pulsos de baja concentración (Fig. 6.7a) muestran que la respuesta de los receptores no presentan plasticidad; es decir se obtiene un mayor porcentaje de receptores abiertos

para el estímulo de mayor concentración y se reduce el número de receptores abiertos para el segundo pulso más débil. El caso más interesante fue cuando se realizaron las simulaciones con concentraciones altas (Fig. 6.7b). Para este caso los resultados obtenidos de estas simulaciones son un poco similares a los que se muestran en (Fig. 6.6); al realizar una comparación de las gráficas, se nota cómo los receptores generan una respuesta de desactivación ante el estímulo de mayor concentración (primer respuesta para Fig. 6.7b y segunda respuesta en Fig. 6.6). Un punto importante que se puede notar es que hay una clara respuesta de mayor desactivación cuando el primer pulso es de alta concentración.

### **Diferentes frecuencias de pulsos de glutamato**

Se propuso esta dinámica para identificar el comportamiento de los modelos ante trenes de estimulación de diferentes frecuencias, simulando una actividad periódica de la etapa presináptica. Esta dinámica prueba si los modelos reproducen la propiedad de plasticidad neuronal que modula la respuesta de los estímulos que llegan; Este escenario es útil, por ejemplo para estudiar la respuesta postsináptica generada en el nervio auditivo para sonidos de diferentes intensidades y frecuencias [24] . Las simulaciones para este escenario se realizaron con alta concentración de glutamato en el sistema (5000 moléculas).

Las figuras (6.8a, 6.8b) corresponden a las respuestas de los modelos AMPA de seis y siete estados respectivamente, para el escenario arriba descrito. En ambos modelos se hicieron simulaciones de trenes con una frecuencia de 33Hz, 66Hz y 133Hz durante 125ms. En las gráficas se observa cómo al ir aumentando la frecuencia de los pulsos, el resultado que se obtiene se asemeja cada vez más a la respuesta de un estímulo constante. Este resultado es muy importante porque muestra cómo los receptores tipo AMPA tienen una respuesta máxima y no importa con que frecuencia se estimule el axón presináptico, los receptores inhibirán su respuesta de activación sin exceder un valor máximo de receptores abiertos. También se realizaron pruebas con trenes de 8Hz, 16Hz y 33Hz; ver figuras (6.8c y 6.8d); en las gráficas se puede ver cómo el tiempo de respuesta de los receptores se reduce conforme se incrementa la velocidad de los pulsos. Estos resultados confirman la sensibilidad que tienen los receptores y porque son los responsables de modular la

corriente de etapa postsináptica a escalas de tiempo cortas.

## **Dinámicas de receptores NMDA**

En la figura 6.9a se muestran la respuesta de los receptores NMDA con cantidades constantes de glutamato. Los datos de esta prueba muestran que los receptores NMDA no son muy sensibles ante variaciones de concentración de glutamato; el cambio más notable es el tiempo de activación, el cual se incrementa a medida que se reduce el número de moléculas del neurotransmisor.

Por otro lado, los resultados de estimular los canales iónicos NMDA con trenes de diferentes frecuencias (Fig. 6.9b) sugieren que conforme se aumenta el número de pulsos, el tiempo de activación se reduce. Estas observaciones nos llevan a concluir que la importancia fisiológica de estos receptores se enfoca en modular la respuesta postsináptica en una escala temporal larga, ya que incrementan ó disminuyen el tiempo de activación.

## **6.2. Resultados Simulaciones Geométricas**

### **6.2.1. Condiciones Geométricas**

El objetivo general de todas las simulaciones que se llevaron a cabo durante esta segunda etapa, se enfocó en probar la sensibilidad de los receptores postsinápticos, en los tres aspectos geométricos que se mencionaron en la sección 5.2, ya que realizar ligeras modificaciones de los modelos en algunos de estos tres aspectos puede modificar significativamente la respuesta postsináptica; un ejemplo de este tipo de análisis es el que se ha realizado en [25]. Gran parte de estos estudios realizados por estos investigadores analizan todas estas características mediante el uso de softwares comerciales; como MCell el cual fue diseñado para realizar simulaciones estocásticas de varios fenómenos biológicos y entre ellos el proceso de sinapsis. La simulaciones que se desarrollaron a lo largo de esta segunda etapa de pruebas, no fueron implementadas en algún software comercial, si no que se desarrollaron en el

software libre GFortran, lo que permite que las personas que desarrollan los modelos y los algoritmos que posteriormente son usados para la solución del caso de estudio, tienen la facilidad de poder realizar modificaciones o mejoras del modelo para optimizar la funcionalidad del algoritmo en función de un objetivo en particular.

### **Variación de la altura de la hendidura sináptica**

El objetivo de estas simulaciones fue el de identificar la sensibilidad que tiene la variación de la altura de la hendidura sobre la respuesta del número de receptores en el estado abierto, las figuras 6.10a y 6.10b muestran los resultados obtenidos para el modelo de Heckmann correspondientes a los casos en los que se tiene una y tres vesículas secretoras y donde los receptores son distribuidos en un disco de  $0.1\mu\text{m}$  de radio, mientras que en las figuras 6.10c y 6.10d son los resultados para el caso del modelo de Jonas bajo las mismas condiciones.

En ambos modelos se aprecia notoriamente como la respuesta postsináptica se ve reducida al aumentar la distancia entre las membranas, estos resultados brindan una clara información de la importancia del proceso de difusión de los neurotransmisores, indicando que este fenómeno es lo suficientemente rápido de tal forma que un incremento en la altura de la hendidura provoca que una menor cantidad de moléculas de glutamato llegue a los receptores.

### **Variación en el radio de distribución de los receptores**

Una parte importante del estudio de la sinapsis es el de entender cómo es la respuesta de activación de los receptores ante una distribución aleatoria y en donde el área superficial de la membrana presináptica puede variar y generar una aglomeración de los receptores, pero sin que se pueda encontrar más de un receptor en cada posición. En las gráficas de las figuras 6.12 y 6.13 se muestran los resultados de las simulaciones en donde se varió el radio del disco de distribución de los receptores ( $0.1\mu\text{m}$  y  $0.025\mu\text{m}$ ); en estas gráficas se aprecia el efecto que produce la aglomeración derivando en un incremento del porcentaje de receptores abiertos, lo cual permite dar una primera prueba importante de que el tener efectos de aglomeración dentro de la membrana,

pueden ser la causa de porque se generan repuestas más intensas y que este efecto resulta ser de mayor relevancia que la separación que existe entre los axones pre y postsinápticos.

Modificando los parámetros de la primera columna de la tabla 5.2, se generaron las simulaciones ya antes mencionadas y en esta tabla se muestra una comparación cualitativa del comportamiento de los receptores postsinápticos.

En todas las gráficas los resultados de reducir el radio del disco que simula la membrana postsináptica derivan en un incremento del porcentaje de respuesta, lo cual permite dar una primera prueba importante de que el tener efectos de aglomeración dentro de la membrana, pueden ser la causa de porque se generan repuestas más intensas y que este efecto resulta ser de una mayor relevancia que la posible separación que pudiera haber entre los axones pre y postsinápticos.

## Comparación de Algoritmos

Para comprobar que los resultados obtenidos mediante los dos algoritmos estocásticos (Gillespie y Monte Carlo) eran correctos se realizó una comparación con la solución determinista obtenida con el comando ODE15 de Matlab. Para hacer comparables los resultados se consideró una población de 180 receptores distribuidos en un disco de  $0.1\mu\text{m}$  de radio, los cuales eran estimulados con 5000 moléculas de Glutamato. Para el algoritmo de Monte Carlo, se redujo la altura del cilindro que representa la distancia entre las membranas a 0.002nm (casi cero); de esta forma, los tres algoritmos se enfocaron a resolver un caso simple de transición de estados del modelo de Heckmann.

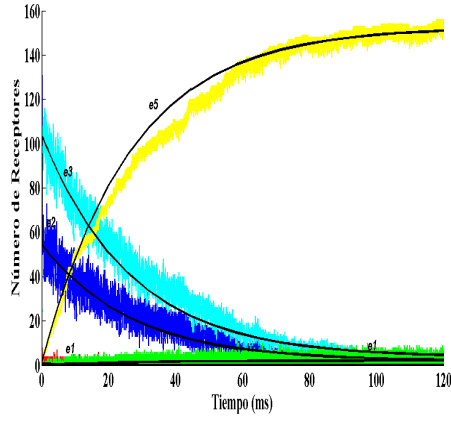
La gráfica 6.14 contiene los resultados de una sola simulación de los tres algoritmos (Gillespie (verde), Monte Carlo (rojo) y ODE15 (negro)), en la gráfica se aprecia claramente cómo las soluciones estocásticas son muy similares a la solución determinista, lo cual debería de esperarse ya que al realizar un mayor número de simulaciones de los algoritmos estocásticos la función de densidad de probabilidad de apertura de los receptores debe tender al valor obtenido con la solución determinista.

Después de haber visto los resultados mostrados en la Fig. 6.14 uno se

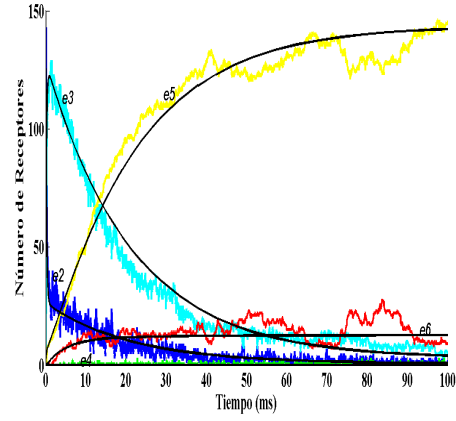
Valor parámetro	Heckmann	Jonas
<i>Distribución de receptores en disco <math>r=100nm</math></i>		
h=10nm	sb	sm
*h=10nm	sa	sa
h=20nm	sb	sm
*h=20nm	sa	sa
<i>Distribución de receptores en disco <math>r=25nm</math></i>		
h=10nm	sb	sm
*h=10nm	sm	sa
h=20nm	sb	sm
*h=20nm	sm	sa
<i>Distancia entre membranas <math>h=10nm</math></i>		
r=100nm	sm	sb
*r=100nm	sa	sa
r=25nm	sm	sb
*r=25nm	sa	sa
<i>Distancia entre membranas <math>h=20nm</math></i>		
r=100nm	sm	sb
*r=100nm	sa	sm
r=25nm	sm	sb
*r=25nm	sa	sm
<i>sa (sensibilidad alta); sm (sensibilidad media); sb (sensibilidad baja); * tres vesículas</i>		

Cuadro 6.1: Tabla de comparación de resultados obtenidos con las simulaciones mostradas en las figuras 6.10, 6.11, 6.12 y 6.13

preguntaría porqué no se realizaron todas las simulaciones mediante una solución determinista que es mucho más sencilla de implementar y que a su vez requiere de menor poder de cómputo. Cabe resaltar que las soluciones deterministas son precisas y adecuadas cuando se conoce toda la descripción del fenómeno observado y cuando se consideran condiciones de homogeneidad para un gran número de partículas. Sin embargo, se sabe que el proceso de difusión del neurotransmisor y la ubicación de los receptores y las vesículas secretoras no es homogénea, y además la respuesta sináptica depende de la activación de pocos receptores por un número muy reducido de moléculas de glutamato. Además se sabe que la organización espacial de las vesículas y receptores varía de acuerdo a cada sinapsis y estos dos factores son responsables de la velocidad y sensibilidad de la respuesta neuronal. Por tanto, sería incorrecto fijar su posición o asumir homogeneidad para estudiar el fenómeno de plasticidad sináptica.



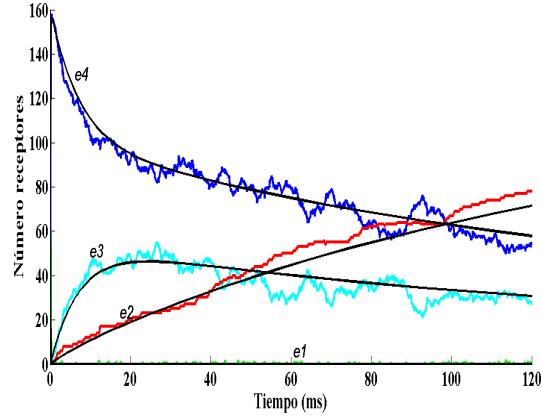
(a) Modelo Heckmann



(b) Modelo Jonas

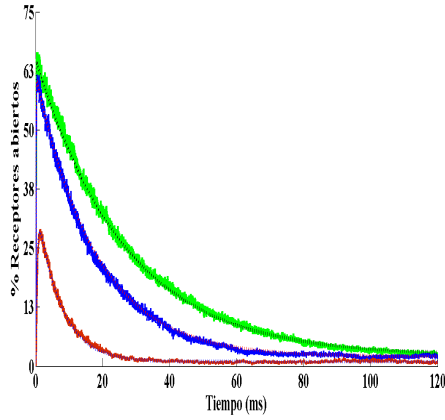
Figura 6.1: Simulación de transición entre estados para modelos de receptores AMPA. (a)  $e_0$  (morado),  $e_1$  (rojo),  $e_2$  (azul),  $e_3$  (azul cielo),  $e_4$  (verde),  $e_5$  (amarillo). (b)  $e_0$  (morado),  $e_1$  (café),  $e_2$  (azul),  $e_3$  (azul cielo),  $e_4$  (verde),  $e_5$  (amarillo),  $e_6$  (rojo)



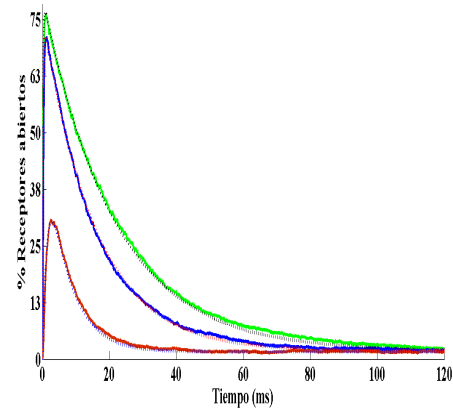


(a) Modelo Jahr

Figura 6.2: Simulación de transición entre estados para modelos de receptores NMDA.  $e_0$  (morado),  $e_1$  (verde),  $e_2$  (azul),  $e_3$  (azul cielo),  $e_4$  (rojo).



(a) Heckmann



(b) Jonas

Figura 6.3: Simulación de receptores AMPA. 5000 moléculas (verde), 500 moléculas (azul) y 50 moléculas (rojo).

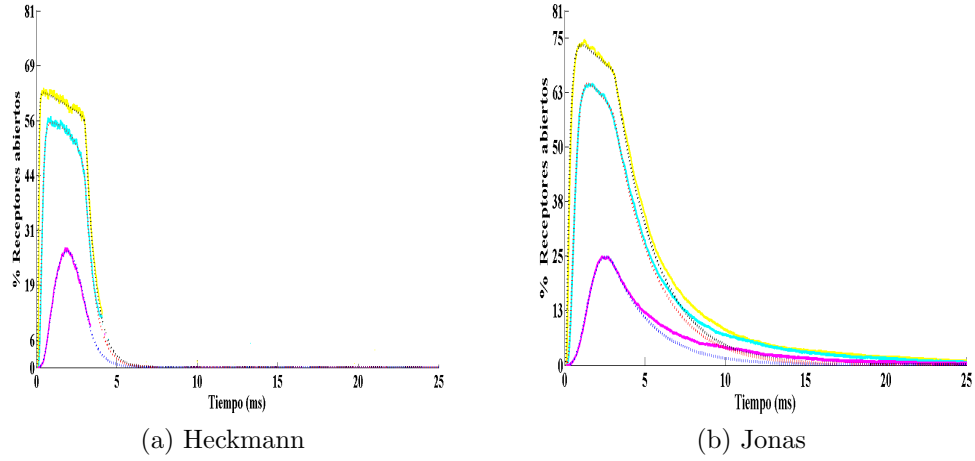


Figura 6.4: Simulación de receptores AMPA con pulsos de corta duración. 5000 moléculas (amarillo), 500 moléculas (azul cielo) y 50 moléculas (morado).

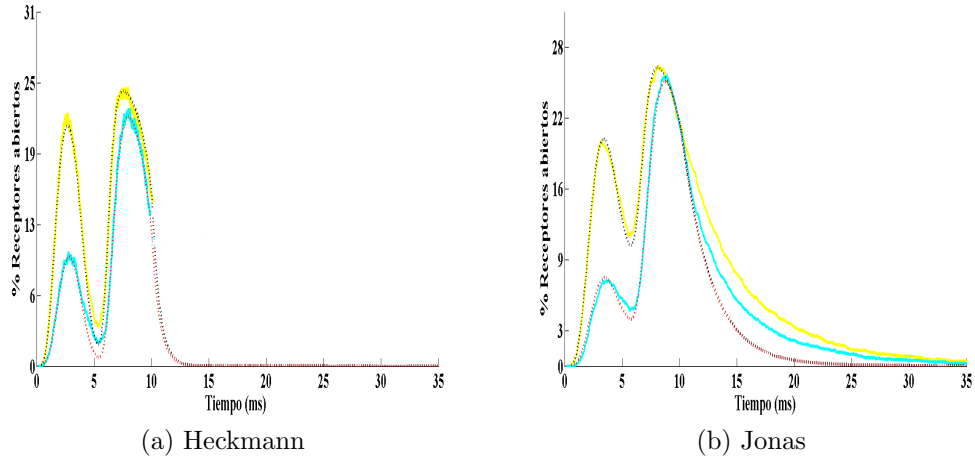


Figura 6.5: Simulación de receptores AMPA aumentando la concentración de glutamato, pulsos de mediana concentración (amarillo), pulsos de baja concentración (azul cielo).

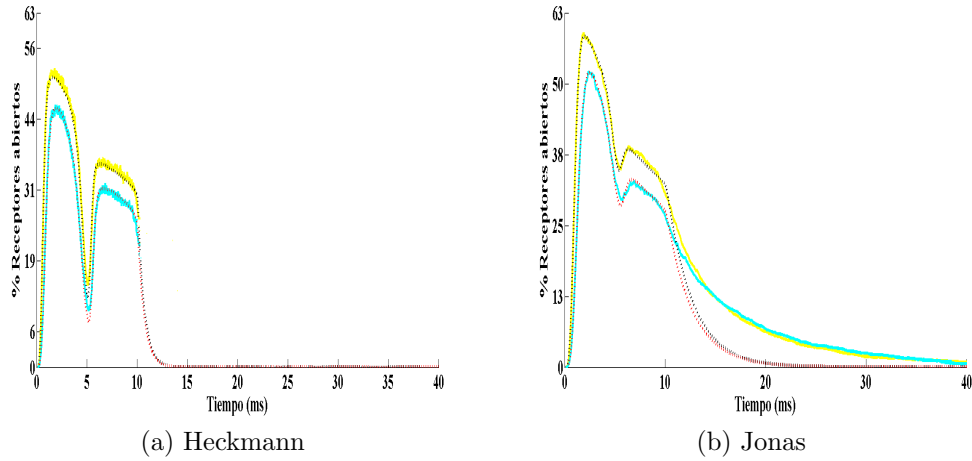


Figura 6.6: Simulación de receptores AMPA aumentando la concentración de glutamato, pulsos de alta concentración (amarillo), pulsos de mediana concentración (azul cielo).

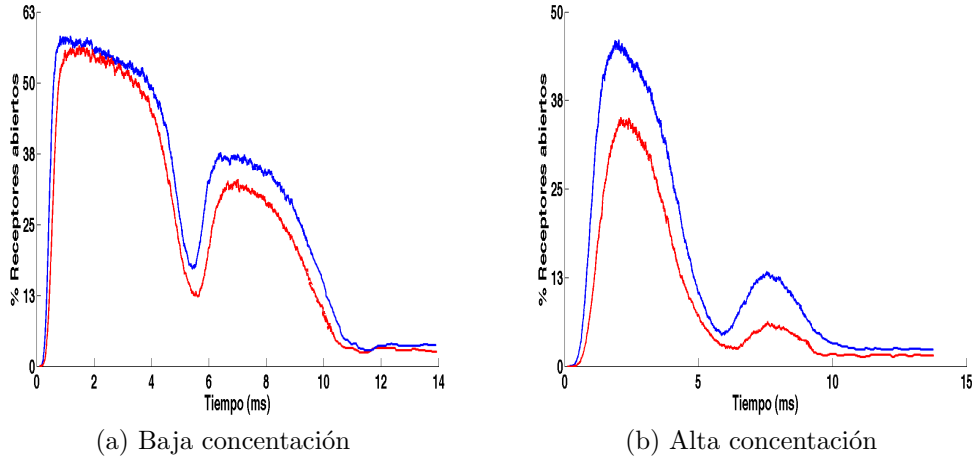
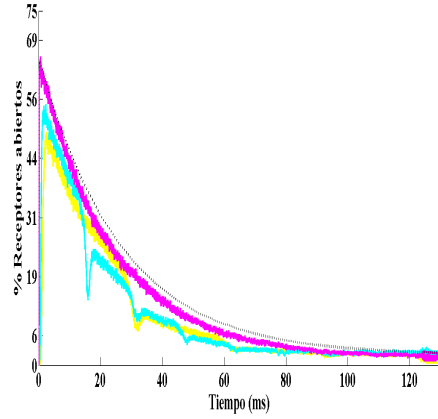
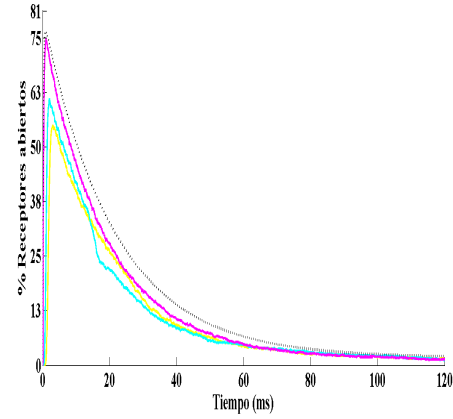


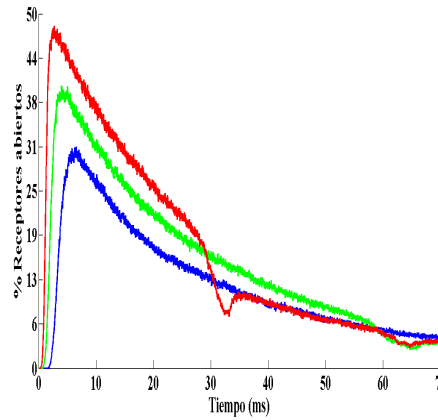
Figura 6.7: Simulación de los receptores AMPA bajo una disminución de la intensidad de concentración, pulsos de alta concentración (azul) y pulsos de mediana concentración (rojo)



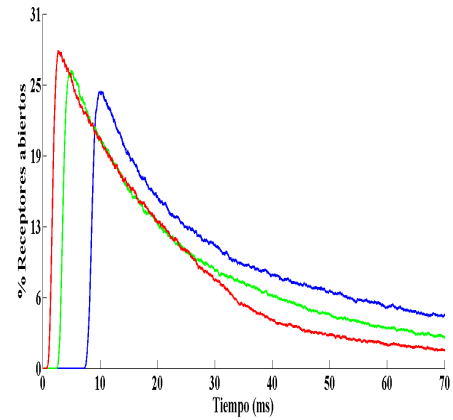
(a) Heckmann



(b) Jonas

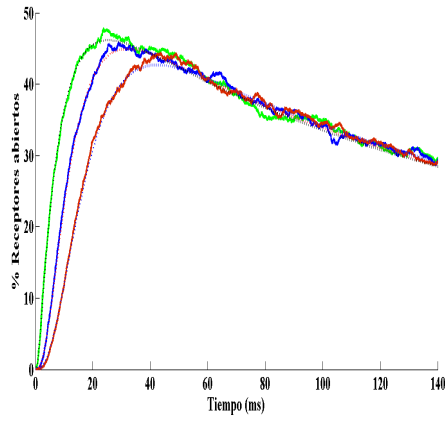


(c) Heckmann

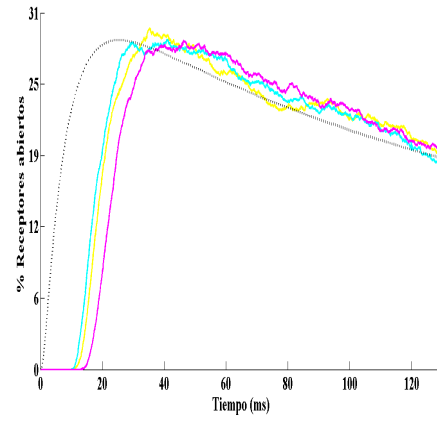


(d) Jonas

Figura 6.8: Simulación de diferentes frecuencias de pulsos de glutamato en receptores AMPA. frecuencias altas 33Hz (amarillo), 66Hz (azul cielo) y 133Hz (morado); frecuencias bajas 8Hz (azul), 16Hz (verde) y 33Hz (rojo).



(a) variación de glutamato



(b) frecuencias de pulsos

Figura 6.9: Simulación de diferentes frecuencias para receptores NMDA. (a) 5000 moléculas (verde), 500 moléculas (azul) y 50 moléculas (rojo). (b) 133Hz (amarillo), 66Hz (azul cielo) y 33Hz (morado).

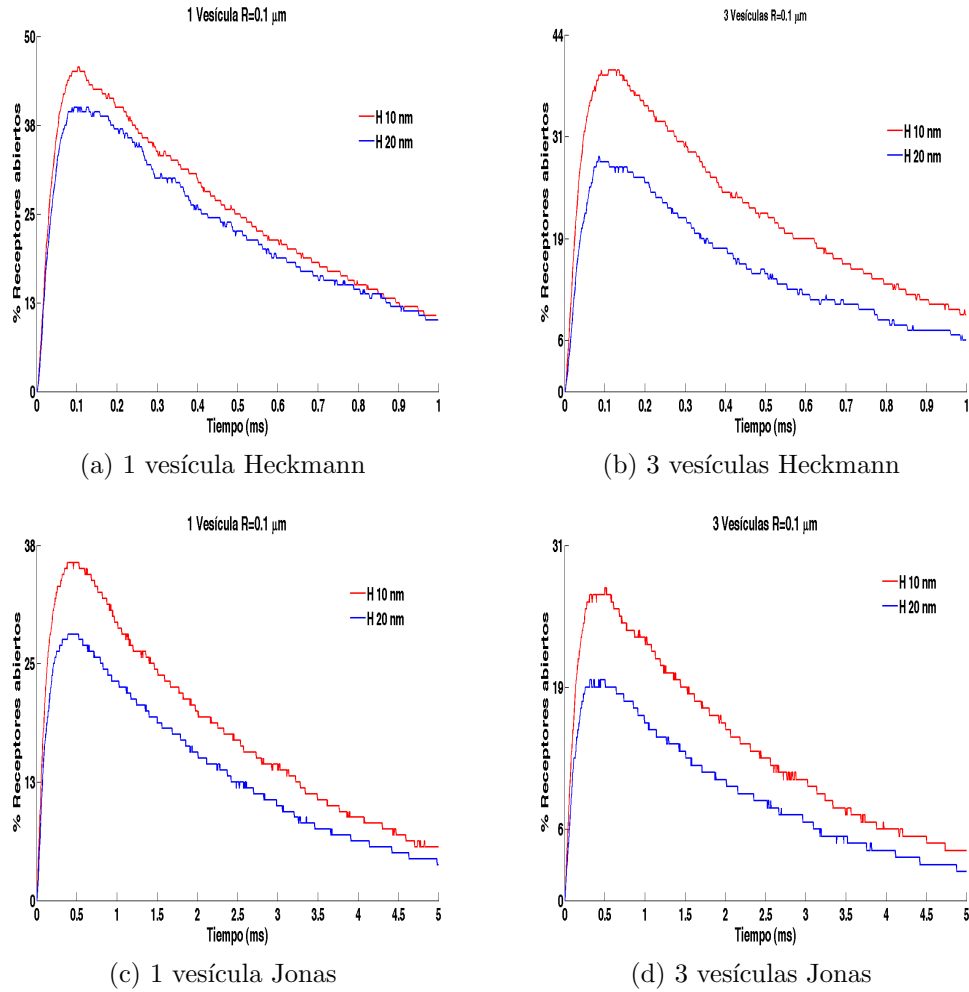


Figura 6.10: Simulación del modelo de Heckmann distribuyendo a los receptores de forma aleatoria en un disco de radio  $0.1\mu\text{m}$  y variando la distancia entre las membranas pre y postsinápticas

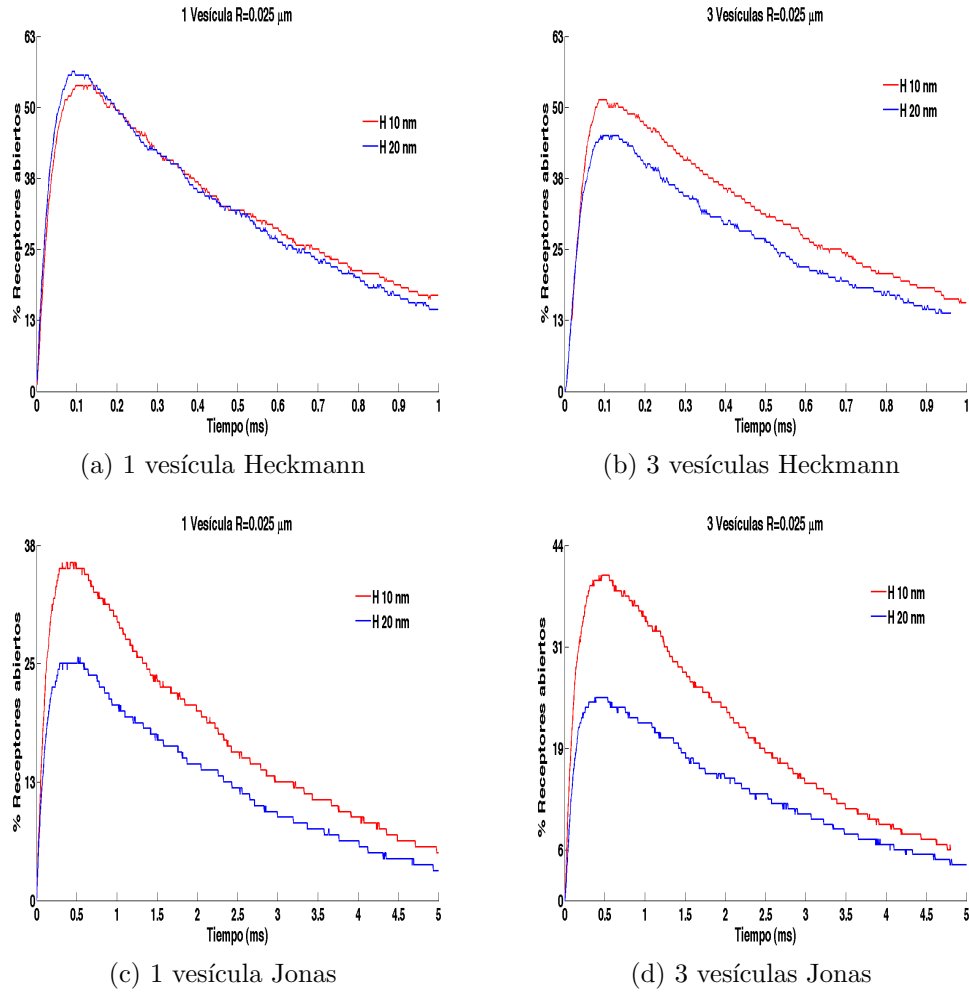


Figura 6.11: Simulación del modelo de Heckmann distribuyendo a los receptores de forma aleatoria en un disco de radio  $0.025\mu\text{m}$  y variando la distancia entre las membranas pre y postsinapticas

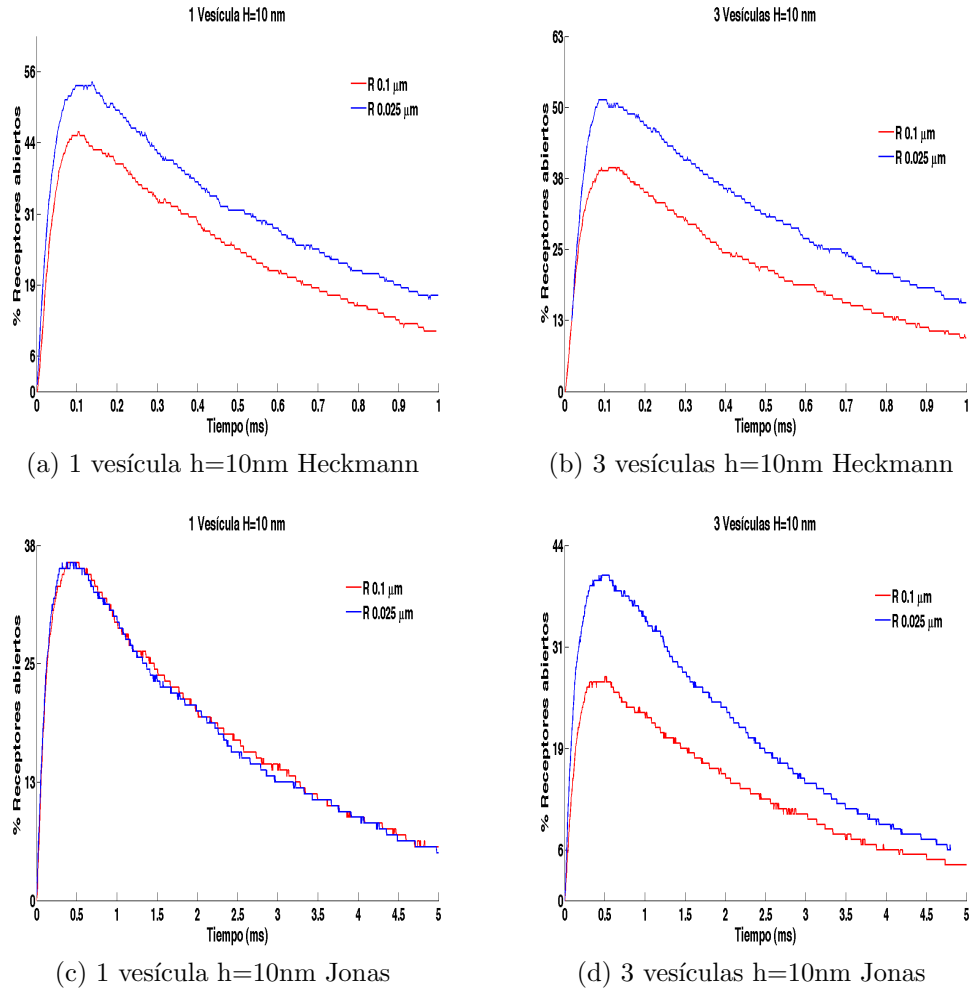


Figura 6.12: Simulación del modelo de Heckmann distribuyendo a los receptores de forma aleatoria y aglomerada ( $r=0.1\mu\text{m}$  y  $r=0.025\mu\text{m}$  respectivamente) y manteniendo como variable constante la distancia entre las membranas pre y postsinápticas ( $h=10\text{nm}$ )



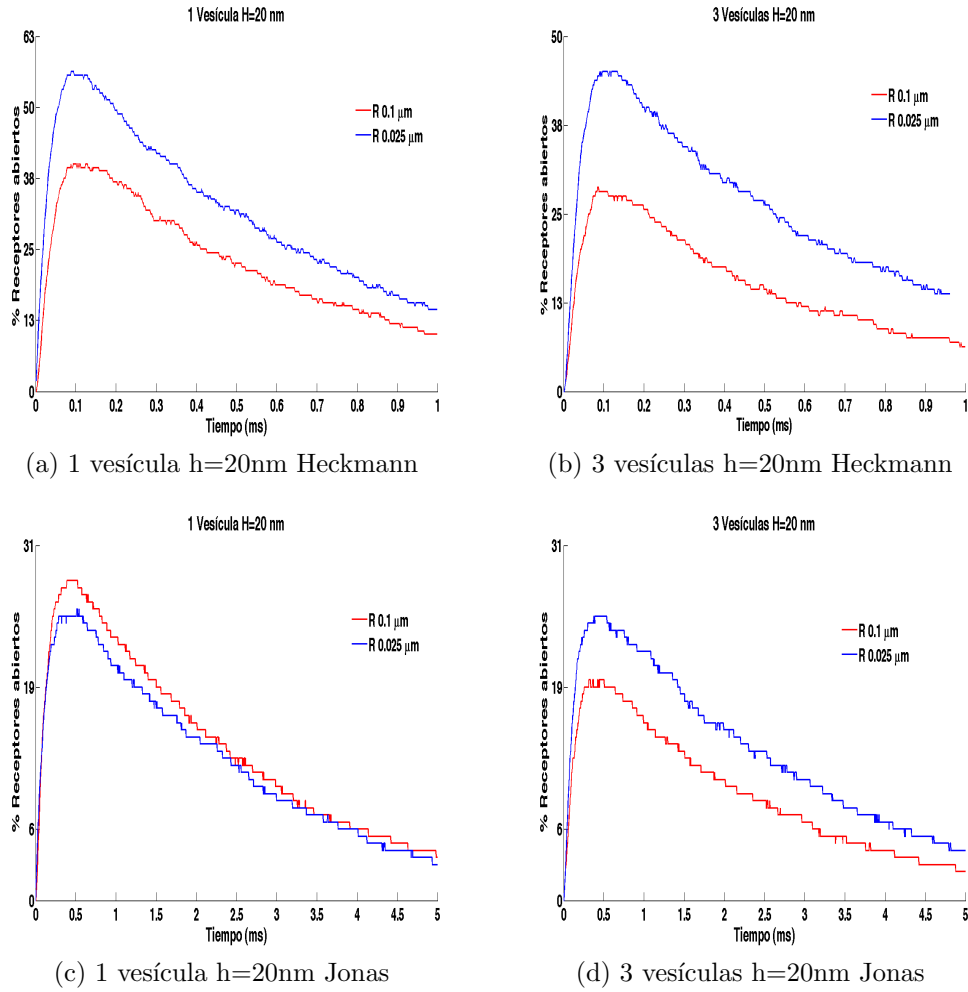


Figura 6.13: Simulación del modelo de Heckmann distribuyendo a los receptores de forma aleatoria y aglomerada ( $r=0.1\mu\text{m}$  y  $r=0.025\mu\text{m}$  respectivamente) y manteniendo como variable constante la distancia entre las membranas pre y postsinápticas ( $h=20\text{nm}$ )

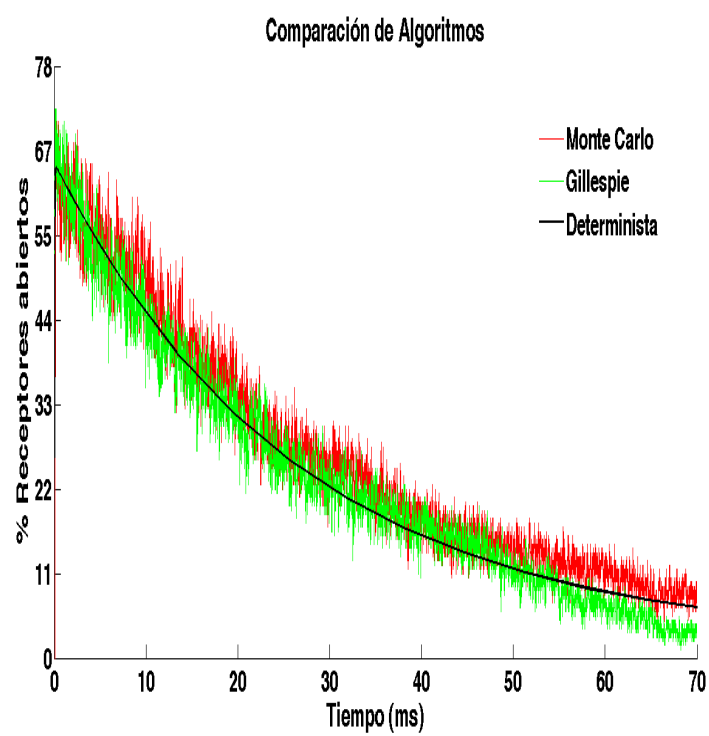


Figura 6.14: Comparación de algoritmos estocásticos

# Capítulo 7

## Conclusiones

Durante esta tesis se realizaron pruebas a dos modelos de receptores AMPA y NMDA que han sido reportados en la literatura. Dentro de estas pruebas se propusieron diferentes dinámicas de glutamato y condiciones geométricas que pudieran representar diferentes escenarios de interacción entre el neurotransmisor y los receptores iónicos. Estas pruebas permitieron identificar cómo es que cada modelo de estados reproduce las características de facilitación y desactivación que caracteriza a los receptores postsinápticos.

En la primer etapa de pruebas (Dinámicas de Glutamato) se simularon los esquemas cinéticos propuestos por [2, 1, 3] mediante el algoritmo de Gillespie; este método resultó ser una excelente herramienta para resolver escenarios sencillos en donde sólo se desea conocer la dinámica temporal de los receptores postsinápticos ante diferentes perfiles de secreción del neurotransmisor. Respecto a las propiedades de desactivación y facilitación que caracterizan a estos receptores, los resultados obtenidos con la metodología de Gillespie (sección 6.1.1) muestran claramente bajo cuáles condiciones de secreción de glutamato los receptores pueden generar una respuesta de plasticidad. Los esquemas que mejor presentaron estas propiedades son los modelos reportados para los receptores AMPA; esto es razonable ya que se sabe que estos receptores dominan la respuesta rápida en neuronas (primeros milisegundos), que es la primer escala temporal donde ocurre la plasticidad, en especial, el modelo que resultó ser más sensible a los cambios de glutamato fue el modelo de Heckmann reproduciendo más claramente las propiedades de plasticidad

(sección 6.1.1). Por otro lado, el modelo propuesto por Lester para los receptores NMDA resultó ser menos sensible a los cambios de concentración de glutamato a escalas de tiempo cortas, siendo ésta la razón por la cual no se consideró a estos receptores en la segunda etapa de simulaciones, donde se implementaron diferentes condiciones geométricas a tiempos cortos, ya que su respuesta tardía y débil no contribuiría de forma significativa a la respuesta postsináptica rápida.

Las simulaciones estocásticas obtenidas con el algoritmo de Gillespie permitieron estudiar las interacciones entre el neurotransmisor y los receptores de glutamato, en donde la respuesta postsináptica está dominada por la rápida respuesta de los receptores AMPA a una escala de tiempo corta, mientras que la respuesta a escala de tiempo más larga está dominada por los receptores NMDA.

En la segunda etapa de simulaciones se consideraron variaciones en la geometría de la zona activa. Los resultados obtenidos de esta etapa son los siguientes:

- Aumentar la distancia entre las membranas pre y postsinápticas reduce la respuesta postsináptica al disminuir considerablemente el porcentaje de receptores abiertos.
- Aglutinar a los receptores genera un incremento en la respuesta postsináptica, incluso en condiciones de baja concentración de glutamato.
- El efecto de aglomeración puede inhibir el efecto de aumentar la distancia entre membranas.
- La difusión de las moléculas de glutamato en la sinapsis es un proceso extremadamente rápido que debe ser modelado con métodos de alta resolución espacial y temporal, ya que la distribución del neurotransmisor determina la respuesta de los receptores.
- El número y distribución de las vesículas secretoras del neurotransmisor en la etapa presináptica modula directamente la intensidad de la respuesta postsináptica. Simular la secreción de una sola vesícula ubicada en el centro de la membrana presináptica genera una respuesta mayor que cuando se tienen tres vesículas distribuidas aleatoriamente en toda la membrana.

- El algoritmo de Monte Carlo resultó ser una herramienta muy valiosa para estudiar el proceso de sinapsis ya que requiere alta resolución espacial y temporal por la naturaleza aleatoria involucrada en la secreción del neurotransmisor y en la respuesta postsináptica.

El resultado más importante obtenido de esta tesis fue el implementar una metodología estocástica para un proceso biológico visto desde un enfoque de Ingeniería de Procesos, haciendo uso de todos los conocimientos y herramientas que se han generado alrededor de esta disciplina para lograr una comprensión detallada del sistema biológico. Se pudo estudiar y analizar un proceso tan primordial para el hombre cómo es el funcionamiento del Sistema Nervioso Central, en particular el proceso de sinapsis, mediante un modelo de simulación que incorpora los elementos esenciales involucrados en la plasticidad sináptica y que resultan ser casi imposibles de observar y experimentar en un laboratorio.

# Apéndice A

## Sistema de ecuaciones esquema de Heckmann

$$\mathbb{P}' = \mathbb{M}\mathbb{E}$$

Donde:

$$\mathbb{P}' = \begin{pmatrix} P_{e_0}(t) \\ P_{e_1}(t) \\ P_{e_2}(t) \\ P_{e_3}(t) \\ P_{e_4}(t) \\ P_{e_5}(t) \end{pmatrix}$$

$$\mathbb{M} = \begin{pmatrix} -q_{01} & q_{10} & 0 & 0 & 0 & 0 \\ q_{01} & -(q_{10} + q_{12} + q_{14}) & q_{21} & 0 & q_{41} & 0 \\ 0 & q_{12} & -(q_{21} + q_{23} + q_{25}) & q_{32} & 0 & q_{52} \\ 0 & 0 & q_{23} & -q_{32} & 0 & 0 \\ 0 & q_{14} & 0 & 0 & -(q_{41} + q_{45}) & q_{54} \\ 0 & 0 & q_{25} & 0 & q_{45} & -(q_{52} + q_{54}) \end{pmatrix}$$

$$\mathbb{E} = \begin{pmatrix} e_0 \\ e_1 \\ e_2 \\ e_3 \\ e_4 \\ e_5 \end{pmatrix}$$

Velocidadesde transición modelo propuesto por Heckmann

$q_{01}$	$1,8 \times 10^7 \text{ } M^{-1}s^{-1}$
$q_{10}$	$4 \times 10^3 \text{ } s^{-1}$
$q_{12}$	$1,4 \times 10^7 \text{ } M^{-1}s^{-1}$
$q_{21}$	$5 \times 10^3 \text{ } s^{-1}$
$q_{45}$	$1,4 \times 10^7 \text{ } M^{-1}s^{-1}$
$q_{54}$	$5 \times 10^3 \text{ } s^{-1}$
$q_{25}$	$100 \text{ } s^{-1}$
$q_{52}$	$1.2 \text{ } s^{-1}$
$q_{14}$	$500 \text{ } s^{-1}$
$q_{41}$	$6 \text{ } s^{-1}$
$q_{23}$	$1,9 \times 10^4 \text{ } s^{-1}$
$q_{32}$	$10^4 \text{ } s^{-1}$

# Apéndice B

## Sistema de ecuaciones esquema de Jonas

$$\mathbb{P}' = \mathbb{M}\mathbb{E}$$

Donde:

$$\mathbb{P}' = \begin{pmatrix} P_{e_0}(t) \\ P_{e_1}(t) \\ P_{e_2}(t) \\ P_{e_3}(t) \\ P_{e_4}(t) \\ P_{e_5}(t) \\ P_{e_6}(t) \end{pmatrix}$$

$$\mathbb{M} = \begin{pmatrix} -q_{01} & q_{10} & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ q_{01} & -(q_{10} + q_{12} + q_{25}) & q_{21} & 0 & q_{41} & 0 & 0 \\ 0 & q_{12} & -(q_{21} + q_{23} + q_{25}) & q_{32} & 0 & q_{52} & 0 \\ 0 & 0 & q_{23} & -(q_{32} + q_{36}) & 0 & 0 & q_{63} \\ 0 & q_{14} & 0 & 0 & -(q_{41} + q_{45}) & q_{54} & 0 \\ 0 & 0 & q_{25} & 0 & q_{45} & -(q_{54} + q_{52} + q_{56}) & q_{65} \\ 0 & 0 & 0 & q_{36} & 0 & q_{56} & -(q_{63} + q_{65}) \end{pmatrix}$$



$$\mathbb{E} = \begin{pmatrix} e_0 \\ e_1 \\ e_2 \\ e_3 \\ e_4 \\ e_5 \\ e_6 \end{pmatrix}$$

Velocidadesde transición modelo propuesto por Jonas

$q_{01}$	$4,59 \times 10^6 \text{ } M^{-1} s^{-1}$
$q_{10}$	$4,26 \times 10^3 \text{ } s^{-1}$
$q_{12}$	$2,84 \times 10^6 \text{ } M^{-1} s^{-1}$
$q_{21}$	$3,26 \times 10^3 \text{ } s^{-1}$
$q_{23}$	$4,24 \times 10^3 \text{ } s^{-1}$
$q_{32}$	$900 \text{ } s^{-1}$
$q_{14}$	$2,89 \times 10^3 \text{ } s_{-1}$
$q_{41}$	$39.2 \text{ } s^{-1}$
$q_{45}$	$1,27 \times 10^6 \text{ } M^{-1} s^{-1}$
$q_{54}$	$45.7 \text{ } s^{-1}$
$q_{25}$	$172 \text{ } s^{-1}$
$q_{52}$	$0.727 \text{ } s^{-1}$
$q_{56}$	$16.8 \text{ } s^{-1}$
$q_{65}$	$190.4 \text{ } s^{-1}$
$q_{36}$	$17.7 \text{ } s^{-1}$
$q_{63}$	$4 \text{ } s^{-1}$

# Apéndice C

## Sistema de ecuaciones esquema de Jhar

$$\mathbb{P}' = \mathbb{M}\mathbb{E}$$

Donde:

$$\mathbb{P}' = \begin{pmatrix} P_{e_0}(t) \\ P_{e_2}(t) \\ P_{e_3}(t) \\ P_{e_4}(t) \\ P_{e_5}(t) \end{pmatrix}$$

$$\mathbb{M} = \begin{pmatrix} -q_{01} & q_{10} & 0 & 0 & 0 \\ q_{01} & -(q_{10} + q_{12}) & q_{21} & 0 & 0 \\ 0 & q_{12} & -(q_{23} + q_{21} + q_{24}) & q_{32} & q_{42} \\ 0 & 0 & q_{23} & -q_{32} & 0 \\ 0 & 0 & q_{24} & 0 & -q_{42} \end{pmatrix}$$

$$\mathbb{E} = \begin{pmatrix} e_0 \\ e_1 \\ e_2 \\ e_3 \\ e_4 \end{pmatrix}$$

Velocidadesde transición modelo propuesto por Jahr

$q_{01}$	$1 \times 10^6 \text{ } M^{-1} s^{-1}$
$q_{10}$	$4.7 \text{ } s^{-1}$
$q_{12}$	$5 \times 10^6 \text{ } M^{-1} s^{-1}$
$q_{21}$	$9.4 \text{ } s^{-1}$
$q_{23}$	$46.5 \text{ } s^{-1}$
$q_{32}$	$91.6 \text{ } s^{-1}$
$q_{24}$	$8.4 \text{ } s^{-1}$
$q_{42}$	$1.8 \text{ } s^{-1}$

## Apéndice D

### Perfiles de Glutamato

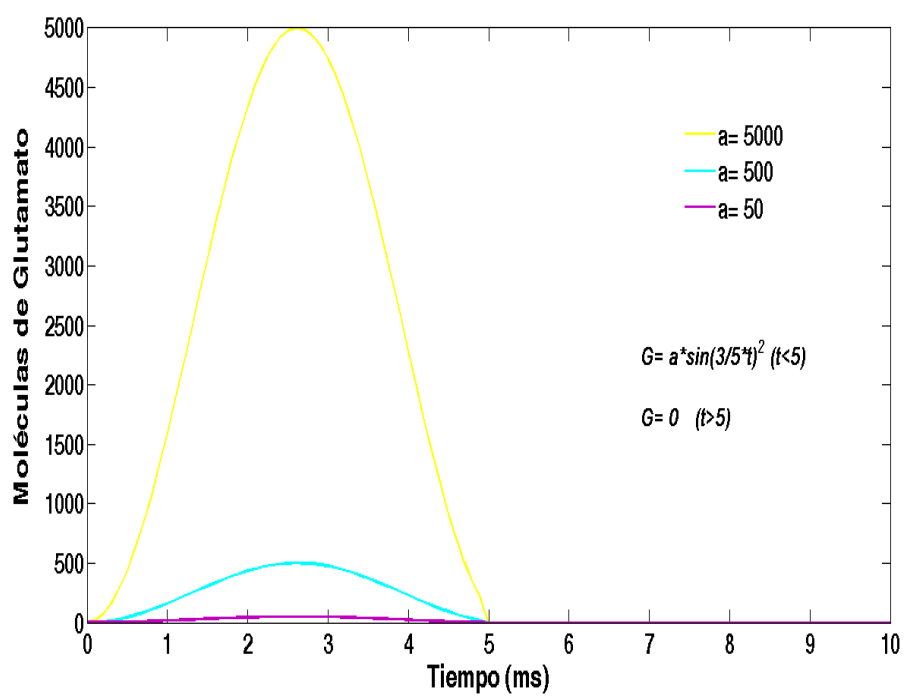
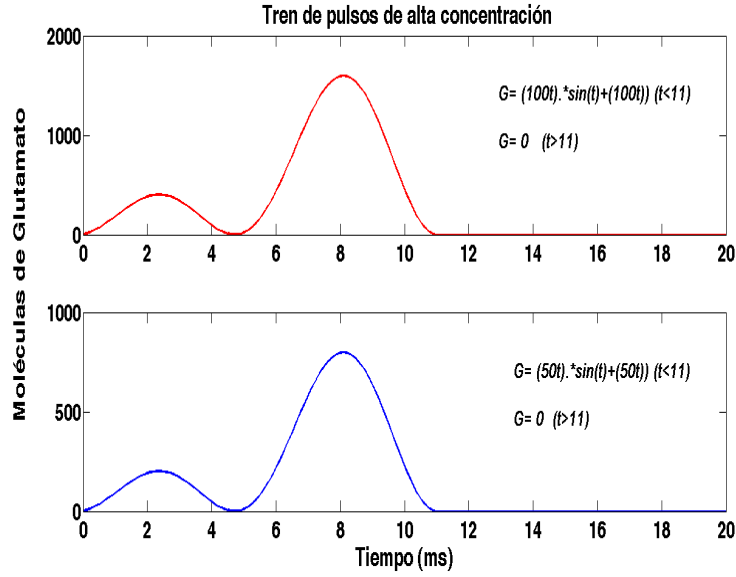
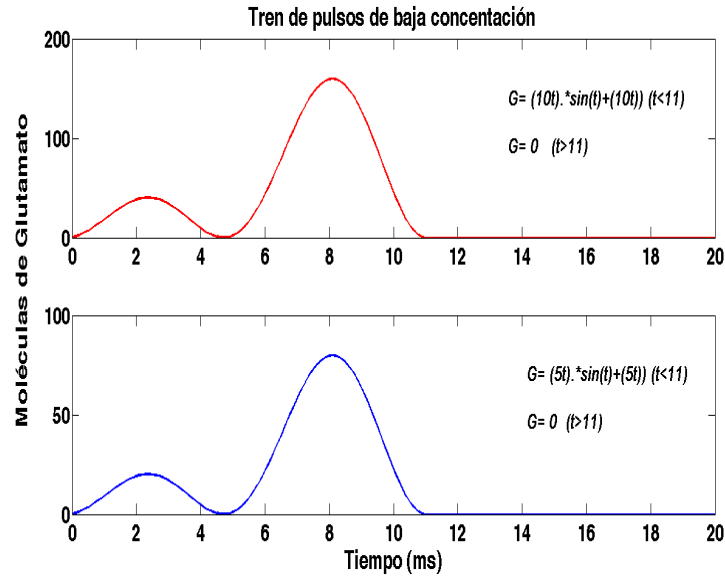


Figura D.1: Pulsos de corta duración y diferente intensidad (usados en la sección 6.1.1).

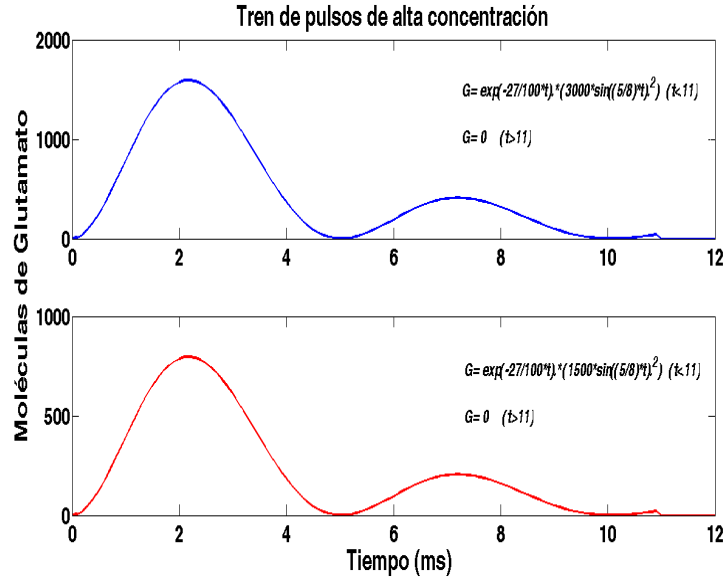


(a) Trenes de alta concentración

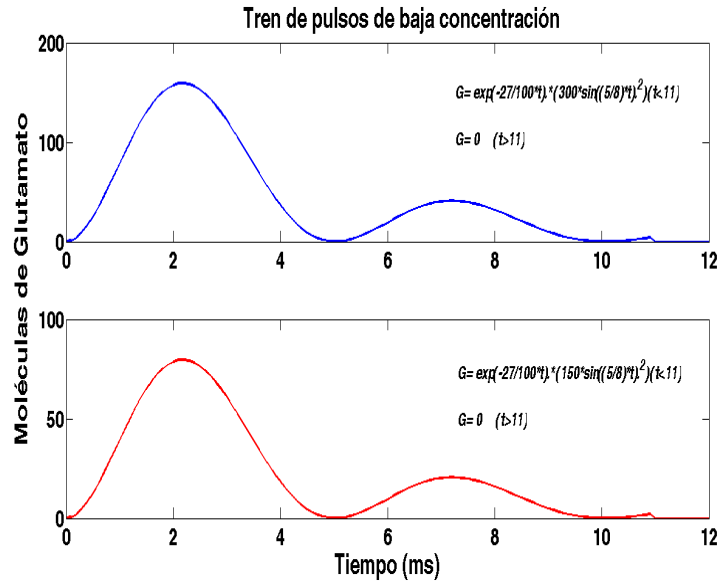


(b) Trenes de baja concentración

Figura D.2: Tren de estímulos de pulsos crecientes de glutamato (usados en la sección 6.1.1).

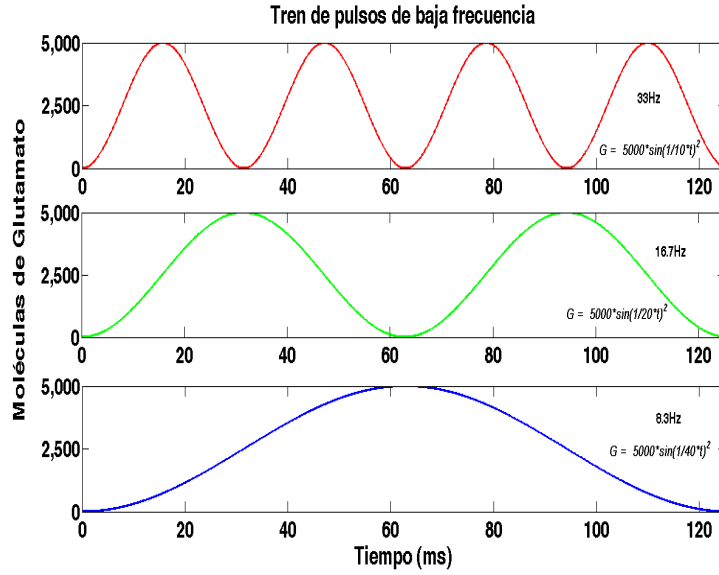


(a) Trenes de alta concentración

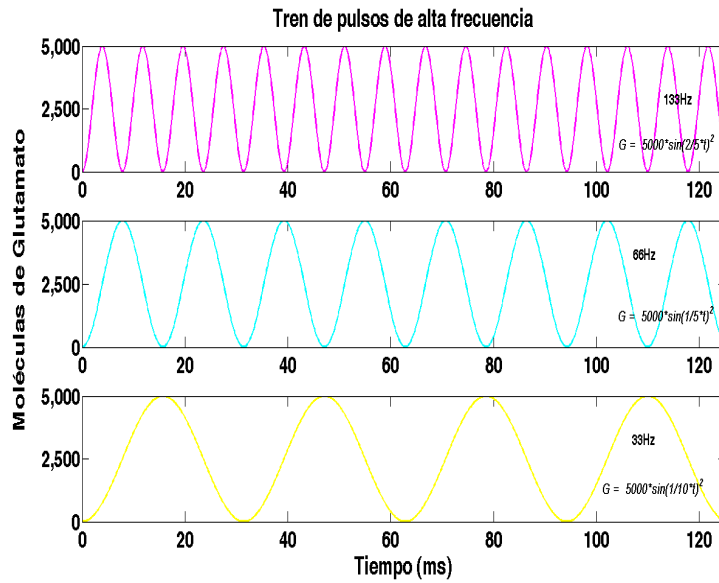


(b) Trenes de baja concentración

Figura D.3: Tren de estímulos de pulsos decrecientes de glutamato (usados en la sección 6.1.1).



(a) Trenes de baja frecuencia



(b) Trenes de frecuencia mediana

Figura D.4: Tren de estímulos constantes y de baja frecuencia. D.4b Tren de estímulos constantes y de frecuencia mediana (usados en la sección 6.1.1).



# Apéndice E

## Publicaciones derivadas de esta Tesis

### Presentaciones orales y posters

1. C. M. Gutierréz-Galindo, V. González-Vélez, A. Gil, *Simulación de Corrientes Postsinápticas de Receptores de Glutamato*. Presentación oral en el **Congreso Nacional de Ingeniería Biomédica (CNIB 2014)**. Puerto Vallarta, Guadalajara, México.
2. C. M. Gutierréz-Galindo, V. González-Vélez, A. Gil, *Simulation of AMPA and NMDA Contribution to Postsynaptic Response*. Poster presentado en **Annual Computational Neuroscience Meeting (CNS 2015)**. Praga, Republica Checa.
3. C. M. Gutierréz-Galindo, V. González-Vélez, A. Gil, *Modelado Estocástico del Proceso de Sinapsis*. Presentación oral en **Escuela Nacional de Optimización y Análisis Numérico (ENOAN 2015)**. Ciudad de México, México.
4. N. Castañeda-Villa, V. González-Vélez, C. M. Gutierréz-Galindo, R. Ávila-Pozos, *Simulación de la respuesta postsináptica generada por las células ciliadas internas ante diferentes frecuencias e intensidades de estimulación*. Presentación oral en el **Congreso Nacional de Ingeniería Biomédica (CNIB 2015)**. Mazatlán, Sinaloa, México.

# Bibliografía

- [1] Jonas P. et al. Quantal components of unitary epscs at the mossy fiber synapse on CA3 pyramidal cells of rat hippocampus. *The Journal of Physiology*, 472:615–663, 1993.
- [2] M. Heckmann, J. Bufler, et al. Kinetics of homomeric GluR6 glutamate receptor channels. *Biophysical Journal*, 71:1743–1750, 1996.
- [3] Lester R. and C. E. Jahr. NMDA channel behavior depends on agonist affinity. *The Journal of Neuroscience*, 12:635–643, 1992.
- [4] M. Ullah et al. Deterministic modelling and stochastic simulation of biochemical pathways using matlab. *Systems Biology*, 153:53–60, 2006.
- [5] D. T. Gillespie. Exact stochastic simulation of coupled chemical reactions. *Physical Chemistry*, 81:2340–2361, 1977.
- [6] M. H. Hennig. Theoretical models of synaptic short term plasticity. *Frontiers in Computational Neuroscience*, 7:1–10, 2013.
- [7] M. H. Hennig, M. Postlethwaite, et al. A biophysical model of short-term plasticity at the calyx of Held. *Neurocomputing*, 70:1626–1629, 2007.
- [8] A. Gil and V. González. Exocytotic dynamics and calcium cooperativity effects in the calyx of Held synapse: A modeling study. *Computational Neuroscience Journal*, 28:65–76, 2010.
- [9] A. Gil et al. A theoretical study of factors influencing calcium-secretion coupling in a presynaptic active zone modeling. *Mathematical Biosciences and Engineering*, 11:1027–1043, 2014.

- [10] S.W. Scheff et al. Quantitative assessment of cortical synaptic density in Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*, 11:29–37, 1990.
- [11] B. Katz. Mechanisms of synaptic transmission. *Reviews of Modern Physics*, 31:524–531, 1959.
- [12] K. Holm. *Computational Modeling of IP3 Receptor Function and Intracellular Mechanisms in Synaptic Plasticity*. PhD thesis, Tampere University of Technology, 2004.
- [13] L. F. Abbott and W. G. Regehr. Synaptic computation. *Nature*, 431:796–803, 2004.
- [14] M. González. *Progresividad de los Efectos de Glutamato en el Sistema Nervioso Central: Aspectos Experimentales y Clínicos*. PhD thesis, Universidad de Barcelona, 2000.
- [15] R. Schneggenburger and I. D. Forsythe. The calyx of held. *Cell Tissue Res*, 326:311–337, 2006.
- [16] K. M. Franks et al. A monte carlo model reveals independent signaling at central glutametric synapses. *Biophysical Journal*, 83:2333–2348, 2002.
- [17] V. González. *Mathematical Models and Multiscale Simulations of Cellular Secretion Processes*. PhD thesis, Universidad Politécnica de Cataluña, 2011.
- [18] Ottersen OP. and Storm-Mathisen J. Neurons containing or accumulating transmitter amino acids. *Handbook of Chemical Neuroanatomy*, 3(Part III):141–246, 1984.
- [19] L. Medina et al. Características estructurales y funcionales de los transportadores de glutamato: Su relación con la epilepsia y el estrés oxidativo. *Revista de Neurología*, 45:341–352, 2007.
- [20] Adriana Medina et al. Plasticidad neuronal y su relación con el sistema de transportadores de glutamato. *Revista Colombiana de Psiquiatría*, 32:195–201, 2004.
- [21] Juan Lerma. Receptores postsinápticos de neurotransmisores. *Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, 91:271–277, 1997.

- [22] A. Gil, J. Segura, et al. Monte carlo simulation of 3-d buffered  $Ca^{2+}$  diffusion in neuroendocrine cells. *Biophysical Journal*, 78:13–33, 2000.
- [23] J. Von Neumann et al. The beginning of the monte carlo method. *Los Alamos Science*, 1:125–130, 1987.
- [24] N. Castañeda-Villa et al. Simulación de la respuesta postsináptica generada por las células ciliadas internas ante diferentes frecuencias e intensidades de estimulación. *Congreso Nacional de Ingeniería Biomédica (CNIB 2015)*, 2015.
- [25] Sushmita L. et al. A computational model to investigate astrocytic glutamate uptake influence on synaptic transmission and neuronal spiking. *Frontiers in Computational Neuroscience*, 6:1–16, 2012.
- [26] D. J. Wilkinson. *Stochastic Modelling for Systems Biology*. Chapman and Hall/CRC, 2006.
- [27] C. T. Fall, E. S. Marland, et al. *Computational Cell Biology*. Springer-Verlag, New York, 2002.
- [28] Y. Cao and D. T. Gillespie. The slow-scale stochastic simulation algorithm. *Chemical Physics*, 122:014116–1–014116–18, 2005.
- [29] D. T. Gillespie. A general method for numerical simulating the stochastic time evolution of couple chemical reactions. *Computer Physics*, 22:403–434, 1976.
- [30] Y. Cao et al. Multiscale stochastic simulation algorithm with stochastic partial equilibrium assumption for chemical reaction systems. *Computer Physics*, 206:395–411, 2005.
- [31] C. Pawlu, A. DiAntonio, et al. Postfunctional control of quantal current shape. *Cell Press*, 42:607–618, 2004.
- [32] E. Neher. A comparison between exocytic control mechanisms in adrenal chromaffin cells and a glutamatergic synapse. *Euro Journal Physiol*, 456:261–268, 2006.
- [33] O. Wolkenhauer. Why model? *Frontiers in Physiology*, 5:1–5, 2014.

- [34] Hugo Solis et al. La excitabilidad neuronal y los canales de potasio. *Arch Neurocién México*, 13:195–201, 2008.
- [35] Fiorenzo Conti and Richard J. Shaping excitation at glutamatergic synapses. *TINS*, 22:451–458, 1999.
- [36] Dwight E. et al. Comparition of coupled and uncoupled during glutamate uptake by glt-1 transporters. *The Journal of Neuroscience*, 23:10153–10162, 2002.
- [37] Alvaro B. and Thomas E. Contribution of postsynaptic molecules to ampa receptor nanodomain organization. *The Journal of Neuroscience*, 49:19048–19050, 2013.
- [38] Maki et al. Regulation of kinetic properties of glur2 ampa receptor channels by alternative splicing. *The Journal of Neuroscience*, 6:2166–2174, 2000.
- [39] Henrique von Gersdorff et al. Presynaptic depression at a calyx synapse: The small contribution of metabotropic glutamate receptors. *The Journal of Neuroscience*, 17:8137–8146, 1997.
- [40] Balice Gordon R.J. and Lichtman JW. Long-term synapse loss induced by focal blockade of postsynaptic receptors. *Nature*, 372:519–524, 1994.
- [41] Roberto Malinow and Robert C. Malenka. Ampa receptor trafficking and synaptic plasticity. *Annual Review of Neuroscience*, 25:103–126, 2002.
- [42] Lubor G. et al. Postsynaptic response kinetics are controlled by a glutamate transporter at cone photoreceptors. *Journal of Neurophysiology*, 79:190–196, 1998.
- [43] Xiaping Xie et al. Novel expression mechanism for synaptic potentiation: Alignment of presynaptic release site and postsynaptic receptor. *Neurobiology*, 94:6983–6988, 1997.
- [44] Wahl L.M. et al. Monte carlo simulation of fast excitatory synaptic transmission at a hippocampal synapse. *Jounal of Neurophysiology*, 75:597–608, 1996.

- [45] Piotr J. et al. The effects of geometrical parameters on synaptic transmission: A monte carlo simulation study. *Biophysical Journal*, 73:2874–2890, 1997.
- [46] Leonid P. and Dmitri A. The optimal height of the synaptic cleft. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104:1823–1828, 2007.
- [47] Alain D. et al. Synthesis of models for excitable membranes, synaptic transmission and neuromodulation using a common kinetic formalism. *Journal of Computational Neuroscience*, 1:195–230, 1994.